

ADELSON JOSÉ DE ARAUJO

**"Estudo fitoquímico das folhas de *Ocotea puberula*
(Reich.) Nees (LAURACEAE)"**

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção do grau de Mestre. Curso de Pós-
Graduação em Química, Setor de Ciências
Exatas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Ana Luísa Lacava Lordello

CURITIBA

2000

TERMO DE APROVAÇÃO

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE
OCOTEA PUBERULA (REICHL.) NEES (LAURACEAE)**

por

ADELSON JOSÉ DE ARAUJO

Dissertação aprovada como requisito

parcial para obtenção do grau de

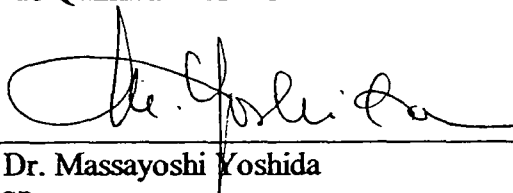
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,

pela Comissão Examinadora composta por:

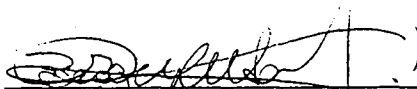
Orientador:



Prof.^a Dr.^a Ana Luísa Lacava Lordello
Dept^o de Química – UFPR



Prof. Dr. Massayoshi Yoshida
IQ-USP



Prof.^a Dr.^a Beatriz Helena L. N. Sales Maia
Dept^o de Química - UFPR

Curitiba, 08 de dezembro de 2000.

AGRADECIMENTOS

A prof^a Ana Luísa Lacava Lordello por sua orientação e amizade.

A prof^a Beatriz Helena Sales Maia pela importante colaboração como co-orientadora.

A Ivânia da Universidade Estadual de Maringá pelos espectros de RMN ^{13}C e RMN ^1H 300 MHz.

A Dulce H. S. Silva da UNESP-Araraquara pelos espectros de RMN ^1H a 500 MHz, e ao Eberlin da UNICAMP pelos espectros de massas

Ao Ângelo pelos espectros de RMN ^1H a 80 MHz e pelos espectros no infravermelho.

Aos professores e alunos do Laboratório de Síntese Orgânica e Ecologia química pelo empréstimo de materiais e por disponibilizar o equipamento de CG/EM.

Ao professor Brás H. de Oliveira por permitir a utilização de seu laboratório.

Aos colegas do Laboratório de Produtos Naturais, em especial a Denise e a Maria Cristina pela amizade.

A todos os funcionários e professores do Departamento de Química. da UFPR

A todos os colegas da pós-graduação.

Aos colegas do LAPNEQ, Aline, Audrey, Cynthia, Daniela, Geibe, Sandra pela convivência e amizade.

A grande amiga Sirlei por sua amizade e companheirismo.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	III
LISTA DE FIGURAS	V
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	VIII
RESUMO	IX
ABSTRACT	X
1. INTRODUÇÃO	
1.1. O Gênero <i>Ocotea</i>	001
1.2. Espécie <i>Ocotea puberula</i> (Reich.) Nees	009
1.3. Os alcalóides	011
1.3.1. Os alcalóides aporfinicos	013
2. OBJETIVOS	016
3. MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1- Especificações dos Materiais e Métodos	016
3.2- Estudo fitoquímico de Folhas de <i>Ocotea puberula</i>	017
3.2.1- Coleta e obtenção do extrato	017

3.2.2- Fracionamento cromatográfico	017
3.2.2.1- Fração hexânica- FH ₂	020
3.2.2.2- Fração diclorometânica FD ₂	020
3.2.2.3- Fração DCM/metanol FDM ₂	020
3.2.2.4 – Fração metanólica FM ₂	022
3.3 – Extração e Análise dos óleos essenciais de folhas e galhos de <i>Ocotea puberula</i> (Lauraceae)	023
 4-RESULTADOS E DISCUSSÃO	 025
4.1-Alcalóides aporfinicos de <i>Ocotea puberula</i>	028
Determinação estrutural de I	030
Determinação estrutural de II	034
Determinação estrutural de III	038
Determinação estrutural de IV	042
Determinação estrutural de V	046
Determinação estrutural de VI	050
Determinação estrutural de VII	054
Determinação estrutural de VIII	058
4.2 – Composição química dos óleos essenciais de folhas e galhos de <i>Ocotea puberula</i> (Lauraceae)	063
 5-CONCLUSÃO	 068
 6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 069

LISTA DE TABELAS

Tabela-1- Espécies em que foram isolados alguns dos alcalóides aporfinicos encontrados no gênero <i>Ocotea</i> .	008
Tabela 2- deslocamentos químicos característicos dos grupos substituintes ligados aos anéis A e D.	027
Tabela 3 Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C de 1 com aqueles obtidos na literatura para a ocoteína.	033
Tabela 4 Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C de 2 com aqueles obtidos na literatura para a dicentrina.	037
Tabela 5 Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C de 3 com aqueles obtidos na literatura para a predicentrina	041
Tabela 6 Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C de 4 com aqueles obtidos na literatura para a N-metil-laurotetanina.	045
Tabela 7 Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C de 5 com aqueles obtidos na literatura para a isodomeesticina.	049
Tabela 8 Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C de 6 com aqueles obtidos na literatura para a leucoxina.	053
Tabela 9 Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C de 7 com aqueles obtidos na simulação da 3-hidroxi-dicentrina.	057
Tabela 10- Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C de 8 com aqueles encontrados na literatura	

para a dicentrina.	062
Tabela 11- correlações observadas no HETCOR para o alcalóide VIII.	063
Tabela 12: Principais constituintes químicos do óleo essencial das folhas de <i>Ocotea puberula</i> .	066
Tabela 13: Principais constituintes químicos do óleo essencial dos galhos de <i>Ocotea puberula</i> .	067

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Esqueleto de alguns alcalóides isoquinolínicos	002
Figura 2- Fluxograma da extração e fracionamento do extrato etanólico de folhas de <i>Ocotea puberula</i> .	019
Figura 3- Fluxograma do fracionamento da fração diclorometano/metanol (FDM ₂) de folhas de <i>Ocotea puberula</i> .	022
Figura 4- Proposta de fragmentação de massas para a ocoteína.	032
Figura 5- Proposta de fragmentação de massas para a dicentrina.	036
Figura 6- Proposta de fragmentação de massas para a predicentrina.	040
Figura 7- Proposta de fragmentação de massas para a N-metil-laurotetanina.	044
Figura 8- Proposta de fragmentação de massas para a isodomesticina.	048
Figura 9- Proposta de fragmentação de massas para a leucoxina.	052
Figura 10- Proposta de fragmentação de massas para a 3-hidroxi-dicentrina.	056
Figura 11- Proposta de fragmentação de massas para a N-óxido dicentrina.	060
Figura 12- Estrutura dos mono e sesquiterpenos identificados nas folhas e galhos de <i>Ocotea puberula</i> .	064
Figura 13- Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Ocotea puberula</i>	064
Figura 14- Cromatograma do óleo essencial dos galhos de <i>Ocotea puberula</i>	065
Figura 15- espectro RMN ¹ H de 1 (CDCl ₃ , 300 MHz)	072

Figura 16- espectro RMN ^{13}C PND de I (CDCl_3 , 75 MHz)	073
Figura 17- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de I (CDCl_3 , 75 MHz)	074
Figura 18- espectro de massas de I	075
Figura 19- espectro RMN ^1H de II (CDCl_3 , 300 MHz)	076
Figura 20- espectro RMN ^{13}C PND de II (CDCl_3 , 75 MHz)	077
Figura 21- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de II (CDCl_3 , 75 MHz)	078
Figura 22- espectro de massas de II	079
Figura 23- espectro RMN ^1H de III ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, 300 MHz)	080
Figura 24- espectro RMN ^{13}C PND de III ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, 75 MHz)	081
Figura 25- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de III ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 75 MHz)	082
Figura 26 - espectro de massas de III	083
Figura 27- espectro RMN ^1H de IV (CDCl_3 , 300 MHz)	084
Figura 28- espectro RMN ^{13}C PND de IV (CDCl_3 , 75 MHz)	085
Figura 29- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de IV (CDCl_3 , 75 MHz)	086
Figura 30- espectro de HETCOR de IV	087
Figura 31 - espectro no infravermelho de IV	088
Figura 32- espectro de massas de IV	089
Figura 33- espectro RMN ^1H de V (CDCl_3 , 300 MHz)	090
Figura 34- espectro RMN ^{13}C PND de V (CDCl_3 , 75 MHz)	091
Figura 35- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90°	

de V (CDCl ₃ , 75 MHz)	092
Figura 36- espectro de HETCOR de V (CDCl ₃ /CD ₃ OD)	093
Figura 37- espectro no infravermelho de V	094
Figura 38- espectro de massas de V	095
Figura 39- espectro RMN ¹ H de VI (CDCl ₃ , 300 MHz)	096
Figura 40- espectro RMN ¹³ C PND de VI (CDCl ₃ , 75 MHz)	097
Figura 41- espectro RMN ¹³ C DEPT-135 e 90° de VI (CDCl ₃ , 75 MHz)	098
Figura 42- espectro de HETCOR de VI (CDCl ₃)	099
Figura 43- espectro no infravermelho de VI	100
Figura 44 - espectro de massas de VI.	101
Figura 45- espectro RMN ¹ H de VII (CDCl ₃ /CD ₃ OD, 300 MHz)	102
Figura 46- espectro RMN ¹³ C PND de VII (CDCl ₃ /CD ₃ OD, 75 MHz)	103
Figura 47- espectro RMN ¹³ C DEPT-135 e 90° de VII (CDCl ₃ /CD ₃ OD, 75 MHz)	104
Figura 48- espectro de massas de VII.	105
Figura 49- espectro RMN ¹ H de VIII (CDCl ₃ , 500 MHz)	106
Figura 50- espectro RMN ¹³ C PND de VIII (CDCl ₃ , 125 MHz)	107
Figura 51- espectro de RMN ¹³ C DEPT-135 e 90° de VIII (CDCl ₃ , 75 MHz)	108
Figura 52- espectro de HETCOR de VIII (CDCl ₃)	109
Figura 53- espectro de massas de VIII	110

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CC- Cromatografia em coluna aberta

CCDC- Cromatografia em camada delgada comparativa

CCDP- Cromatografia em camada delgada preparativa

CG/EM- Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

COSY- Mapa de contorno homonuclear ^1H - ^1H

DCM- diclorometano

DEPT- Espectro de RMN ^{13}C com transferência de polarização

EtOH- Etanol

Et₂O- Éter etílico

FD₂- Fração diclorometânica

F.DCM 1- Fração diclorometano não alcaloídica

F.DCM 2- Fração diclorometano alcaloídica

FDM₂- Fração diclorometânica/metanólica

FH₂- Fração hexânica

FM₂- Fração metanólica

HETCOR- Mapa de contorno heteronuclear ^1H - ^{13}C

Me₂CO- Acetona

MeOH- Metanol

PhMe- Tolueno

PND- Espectro de RMN ^{13}C desacoplado

RMN- Ressonância Magnética Nuclear

δ - deslocamento químico

RESUMO

O presente trabalho descreve o estudo químico das folhas de *Ocotea puberula* (Reich.) Nees coletada no campus do Centro Politécnico em Curitiba-PR.

A análise preliminar do extrato obtido das folhas desta espécie mostrou que os metabólitos secundários mais abundantes eram alcalóides. Em virtude disto, o estudo foi direcionado para o isolamento desta classe de substâncias.

As folhas foram submetidas a extração com etanol e com o extrato obtido foi realizada extração para alcalóides. A fração alcaloídica foi fracionada através de diversos processos cromatográficos fornecendo 9 substâncias sendo 8 alcalóides aporfinicos, sendo eles, ocoteína, dicentrina, predicentrina, N-metil-laurotetanina, isodomeesticina, leucoxina, 3-hidroxi dicentrina e N-óxido dicentrina, sendo que apenas 1 delas, a ocoteína já havia sido isolado nesta espécie e 2 delas, a 3-hidroxi dicentrina e a N-óxido dicentrina são inéditas como produto natural. As estruturas foram determinadas por RMN ^1H e ^{13}C (PND, DEPT 90 e 135°) COSY ^1H - ^1H , HETCOR e EM.

O estudo da composição química dos óleos essenciais das folhas e galhos, obtidos por arraste a vapor forneceu três monoterpenos e dez sesquiterpenos.

Palavras chaves: alcalóides aporfinicos; *ocotea puberula*; lauraceae

ABSTRACT

This work reports the chemical constituents of leaves of the one specimen of *Ocotea puberula* Nees (Lauraceae) collected at Centro Politécnico of Universidade Federal do Paraná in Curitiba-PR.

The preliminary analysis of ethanol extract from leaves of this species showed that most of its constituents were alkaloids. Because of this, the work was directed to isolation of compounds of this class.

The ethanolic extract was submitted to alkaloid extraction and the alkaloid fraction after several chromatographic fractionations afforded nine compounds (8 aporphine alkaloids and one compound not identified). The structure determination was based on mono and two-dimensional ^1H and ^{13}C NMR spectra, including DEPT 90° e 135°, COSY ^1H - ^1H , HETCOR and e MS.

One of the aporphine alkaloids already had been isolated from this species, five alkaloids were known, but isolated for the first time from this specie and the other two alkaloids are knew as natural product.

The qualitative and quantitative analysis of the essential oils from leaves and stems, obtained by hydrodistillation, were performed by GC-MS and afforded three monoterpenes and ten sesquiterpenes. The relative abundance of these components are shown in this work..

1-INTRODUÇÃO

A família Lauraceae é representada no Brasil por 19 gêneros e aproximadamente 390 espécies. Dentre estes, o gênero *Ocotea* tem despertado maior interesse dos fitoquímicos brasileiros, devido a sua ampla distribuição no território nacional e ao fato de suas espécies serem muito apreciadas no comércio madeireiro tais como: *Ocotea odorifera*, conhecida como sassafrás ou canela-sassafrás; *Ocotea porosa*, popular imbuía ou canela-imbuia; *Ocotea catharinensis*, canela-amarela.¹ Estas espécies estão ameaçadas de extinção, pois além do desmatamento, elas não possuem constância na frutificação,² fato este que dificulta a propagação da espécie.

A grande maioria dos trabalhos fitoquímicos realizados no Brasil empregou Lauraceae brasileiras como matéria prima, principalmente dos gêneros: *Aniba*, *Licaria*, *Nectrandra* e *Ocotea*.

1.1 O gênero *Ocotea*

O gênero *Ocotea* é constituído no mundo, por aproximadamente 300 espécies, das quais, pouco mais de 10% são conhecidas quimicamente, segundo o levantamento bibliográfico realizado.³

As espécies do gênero *Ocotea* são conhecidas por acumularem como metabólitos secundários, alcalóides com esqueletos benzilisoquinolínico ou bis-benzilisoquinolínico, oxo-aporfinico, aporfinico e pró-aporfinico (**figura 1**)

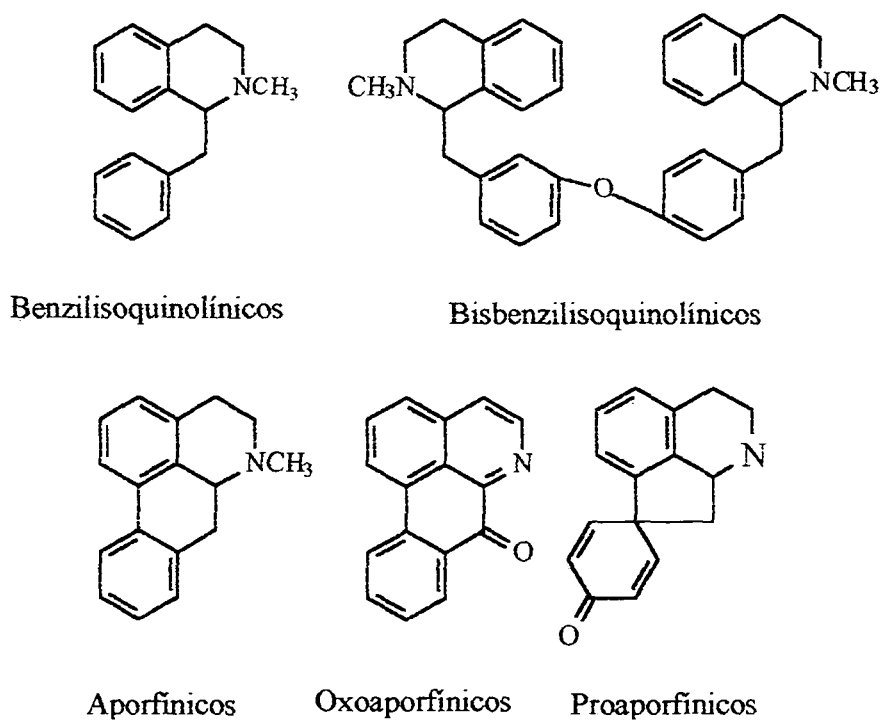
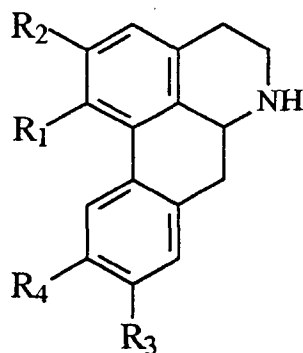
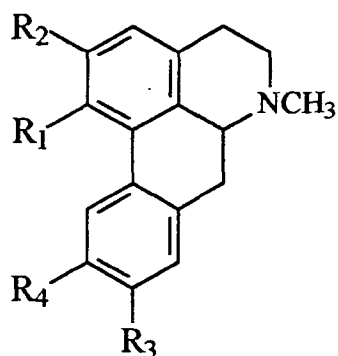


Figura 1- Esqueleto de alguns alcalóides isoquinolínicos.

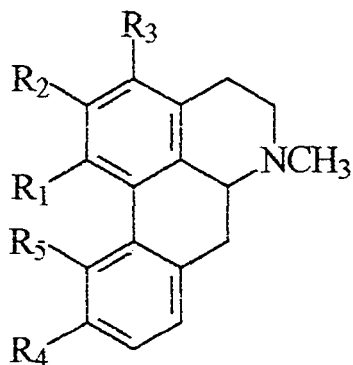
Através do levantamento bibliográfico realizado foram encontrados 46 alcalóides aporfinicos e 2 alcalóides fenantrênicos (47 e 48) isolados de espécies do gênero *Ocotea*,⁴⁻⁸ os quais são mostrados a seguir e na tabela 1.



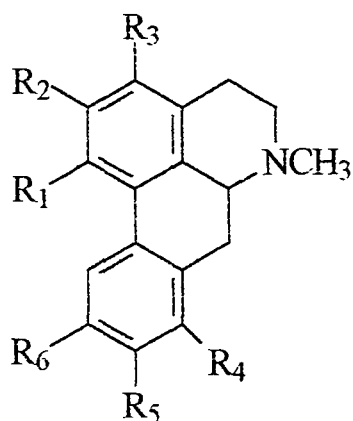
- 1) Caaverina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{H}$
- 2) Assimilobina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{H}$
- 3) Laurelliptina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OH}$; $R_4 = \text{OCH}_3$
- 4) Nordomesticina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$
- 5) Zenkerina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OCH}_3$



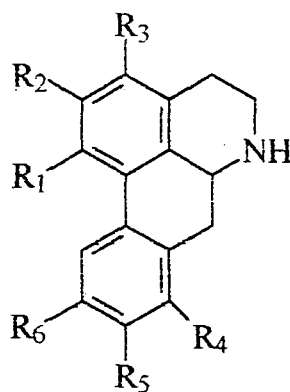
- 6) Lirinidina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{H}$
- 7) Apoglaziovina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OH}$
- 8) Variabilina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{N}(\text{CH}_2\text{Ph})_2$
- 9) Thaliporfina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{OCH}_3$
- 10) Predicentrina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{OCH}_3$
- 11) Glaucina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{OCH}_3$
- 12) Nantenina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$
- 13) Cassythicina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OH}$; $R_4 = \text{OCH}_3$
- 14) Dicentrina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{OCH}_3$



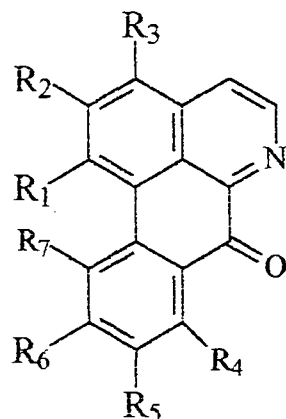
- 15) Isocoridina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OCH}_3$; $R_5 = \text{OH}$
 16) O,O-Dimetilcorituberina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = R_5 = \text{OCH}_3$
 17) Oconovina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{OCH}_3$; $R_5 = \text{OH}$
 18) Ocokriptina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = R_3 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_4 = \text{OCH}_3$; $R_5 = \text{OH}$
 19) 3-hidroxinuciferina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OH}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{H}$
 20) Metoxinuciferina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{H}$
 21) Isoconovina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{OCH}_3$; $R_5 = \text{OCH}_3$
 22) Pulchina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OCH}_3$; $R_5 = \text{H}$



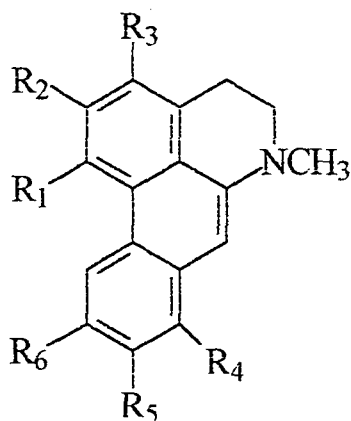
- 24) Ocoteína- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 25) Ocopodina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OCH}_3$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 26) Leucoxina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OH}$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 27) Ocoxilonina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{OH}$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 28) Leucoxilonina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = R_5 = R_6 = \text{OCH}_3$
 29) Ocominarina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = R_5 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 30) Ocotominarina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = R_5 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 31) Thalbaicalidina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = R_6 = \text{OCH}_3$
 32) Isoboldine- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{OH}$; $R_6 = \text{OCH}_3$



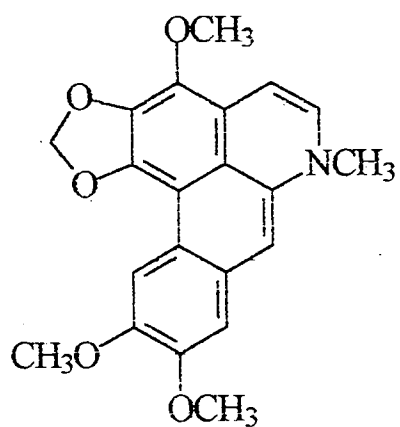
- 33) Norleucoxilonina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = R_5 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 34) Nororientinina- $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{H}$
 35) Nordicentrina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{H}$
 36) O-metil cassifilina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{OCH}_3$



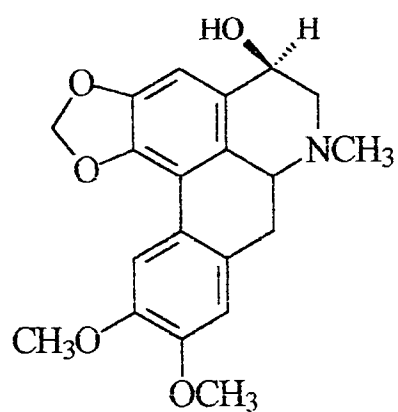
- 37) Dicentrinona- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = R_4 = \text{H}$; $R_5 = R_6 = \text{OCH}_3$; $R_7 = \text{H}$
 38) Hernandonina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{H}$; $R_6 = R_7 = \text{OCH}_2\text{O}$
 39) Thalicminina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = R_6 = \text{OCH}_3$; $R_7 = \text{H}$
 40) Ocominarone- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = \text{OCH}_3$



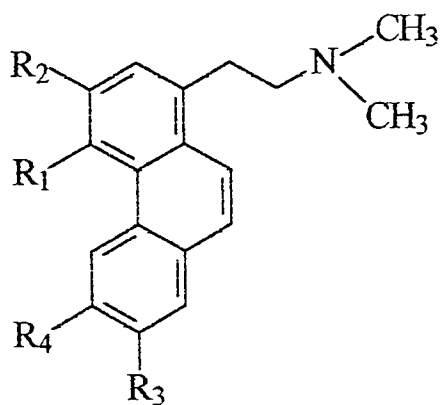
- 41) Deidronantenina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = R_6 = \text{OCH}_2\text{O}$
 42) Deidroicentrina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 43) Deidroocoteina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{OCH}_3$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 44) Deidroocopodina- $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3 = \text{H}$; $R_4 = \text{OCH}_3$; $R_5 = \text{OCH}_3$; $R_6 = \text{OCH}_3$



45) Dideidroocoteina



46) 4-Hidroxidicentrina



47) Thalictuberina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$

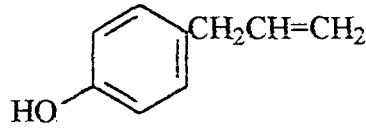
48) 3-O-Demetilthalictuberina- $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = R_4 = \text{OCH}_2\text{O}$

Tabela-1- Espécies em que foram isolados alguns dos alcalóides aporfinicos encontrados no gênero *Ocotea*.

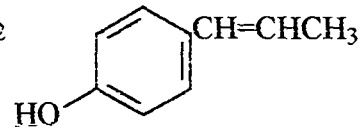
Alcalóide Aporfinico	Espécie do Gênero <i>Ocotea</i>	Referência
1,2 e 6	<i>glaziovii</i>	9
4	<i>sinuata</i>	13
7	<i>glaziovii e variabilis</i>	10
8 e 12	<i>variabilis</i>	4-8
10, 11, 23, 35 e 36	<i>vellosiana</i>	11
3, 5, 22, 32 e 34	<i>caesia</i>	12
14	<i>macropoda, vellosiana e leucoxylon</i>	4, 14
15	<i>boldridgeiana e vellosiana</i>	8
19	<i>boldridgeiana e brenesii</i>	15
15 e 20	<i>boldridgeiana</i>	15
24	<i>puberula e vellosiana</i>	4
25	<i>macropoda e vellosiana</i>	4-8
27	<i>leucoxylon</i>	4-8
28	<i>leucoxylon e vellosiana</i>	4-8
31	<i>bucherii</i>	8
37	<i>macropoda e leucoxylon</i>	4-8
38 e 44	<i>macropoda</i>	4-8
39,43 e 47	<i>puberula</i>	4-8
45 e 46	<i>insularis</i>	8

Algumas espécies não acumulam alcalóides, porém biossintetizam alternativamente aril-propanóides e estes classificam-se em dois grupos:

- Fenil-propanóides com esqueleto básico C_6C_3 , como alilfenóis safrol e metil-eugenol) ou propenilfenóis, derivados biossinteticamente do ácido cinâmico e álcool cinamílico.

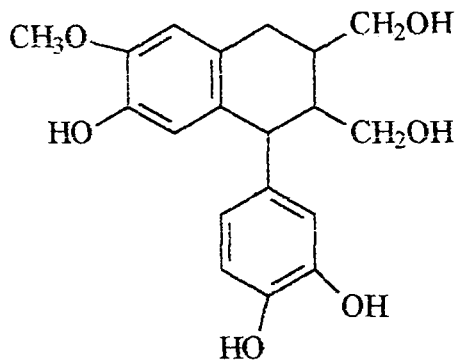


Alilfenol

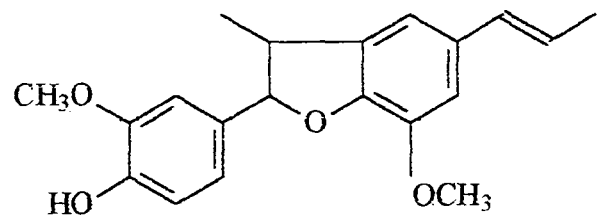


Propenilfenol

- Bis-arilpropanóides como lignanas e neolignanas resultantes da dimerização de duas unidades fenilpropanoídicas.



(isotoxiresinol)
Lignana



Neolignana

1.2-*Ocotea puberula* (Reich.) Nees

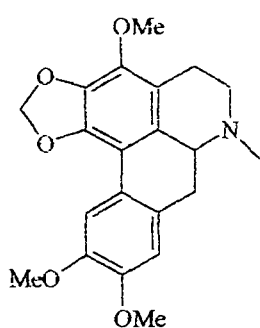
A espécie *Ocotea puberula*, também conhecida como guaicá ou canela guaicá, ocorre no Brasil na região compreendida pelos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul se estendendo até o Rio Grande do Sul, estando presente em quase todas as formações florestais. É uma planta indiferente às condições físicas do solo, e uma das plantas pioneiras mais comuns do planalto meridional. Invade capoeiras e capoeirões, chegando a dominar um determinado estágio da sucessão secundária. Ocorre também em clareiras de matas e matas abertas. É rara no interior da floresta primária densa.

Floresce durante os meses de julho e agosto e os frutos amadurecem no período de novembro a dezembro.¹

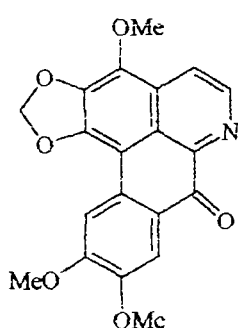
Como espécie pioneira e produtora de grande quantidade de frutos muito apreciados por pássaros (estes considerados seus maiores dispersores), não deve faltar nos plantios mistos de áreas degradadas de preservação permanente.¹

Os indivíduos desta espécie possuem de 15 a 25 metros de altura, com tronco de 40 a 60 cm de diâmetro. Sua madeira pode ser usada na construção civil leve, construções internas, para forros, carrocerias, marcenarias, móveis simples e caixotaria. A árvore pode ser empregada na arborização de ruas.

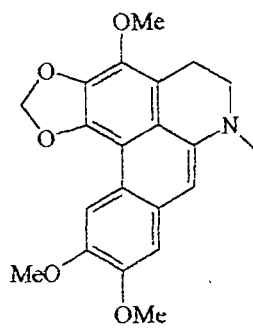
Durante o levantamento bibliográfico que antecedeu a montagem deste projeto, foram observados somente dois trabalhos na literatura científica, realizados com a espécie *Ocotea puberula* oriunda da região de Misiones, Argentina.¹⁶⁻¹⁷ E, as quatro substâncias isoladas pertencem a classes dos alcalóides aporfinicos (ocoteína (24), desidroocoteína (43) e didesidroocoteína (45)) e oxo-aporfinico (talicminina (39)).



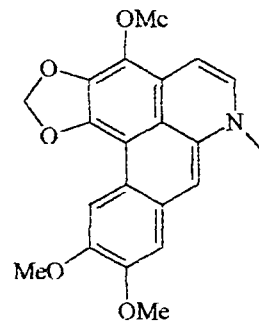
24



39



43



45

1.3-Os alcalóides

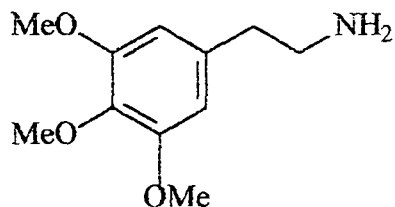
O termo alcalóide foi introduzido por volta de 1819 pelo farmacêutico alemão Wilhelm Meissner. A palavra greco-arábica significa literalmente “tal como álcali”. De fato, a maioria dos alcalóides são compostos básicos, contudo há um pequeno grupo de alcalóides não básicos. A definição hoje aceita foi proposta por Pelletier,¹⁸ onde os alcalóides são definidos como “um composto orgânico, cíclico que contém nitrogênio em um estado de oxidação negativo, o qual é de distribuição limitada entre os organismos vivos”.

A maioria dos alcalóides conhecidos é proveniente das angiospermas, mas também são encontrados em animais, insetos, microorganismos, organismos marinhos e plantas inferiores. O homem tem utilizado os alcalóides principalmente como remédios e venenos. Eles são metabolicamente ativos e tem um importante papel na fisiologia das plantas ou organismos atuando como repelente e na dissuasão de predadores e patógenos.¹⁹

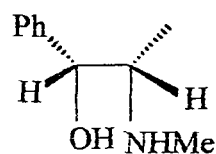
Os alcalóides compreendem um enorme grupo de produtos naturais, com uma grande diversidade de estruturas. A cada ano são relatadas mais de 1500 estruturas químicas novas, das quais um número substancial é útil ao homem. São conhecidas atualmente estruturas químicas de aproximadamente 130.000 alcalóides e sua biossíntese é um dos assuntos que mais desperta interesse entre os pesquisadores.¹⁹

Os alcalóides são classificados em três grupos amplamente aceitos¹⁹: alcalóides verdadeiros, protoalcalóides e pseudoalcalóides. Os alcalóides verdadeiros são derivados dos aminoácidos e mostram uma ampla variedade de atividades fisiológicas. Os protoalcalóides são aminas simples onde o grupo

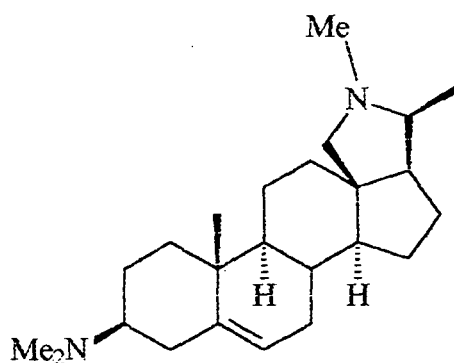
nitrogênio do aminoácido não faz parte de um anel heterocíclico, por exemplo, a mescalina (49) e a efedrina (50). Os pseudoalcalóides não são derivados dos aminoácidos, por exemplo, os alcalóides esteroidais (como a conessina (51)) e alcalóides purínicos (52).



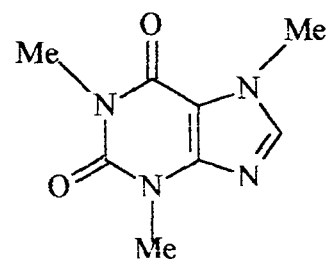
49



50



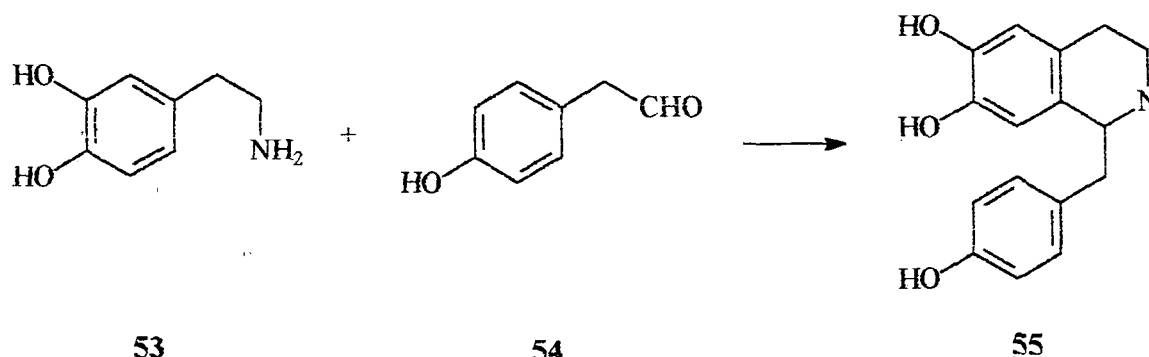
51



52

Os alcalóides verdadeiros são classificados em diversos grupos relacionados biogeneticamente, formado por diferentes rotas biossintéticas. A rota da tirosina e fenilalanina (provenientes do ácido chiquímico) dá origem a vários grupos de alcalóides, um dos mais importantes é aquele dos alcalóides isoquinolínicos.

A maioria dos alcalóides isoquinólicos resulta da condensação da dopamina (53) com o 4-hidroxifenilacetaldeído (54), o qual está presente junto com a dopamina nas plantas. A ciclização com este aldeído leva à 1-benziltetraidroisoquinolina (55), o qual é a unidade básica da qual é formada uma série variada e extremamente extensa de alcalóides⁸.



1.3.1- Os alcalóides aporfinicos

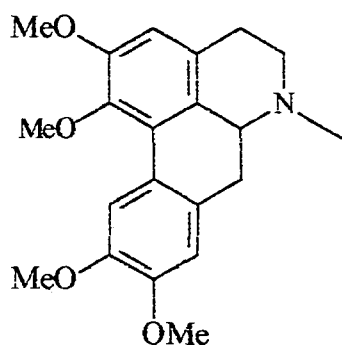
Os alcalóides aporfinicos são claramente derivados dos benzilisoquinólicos pelo acoplamento oxidativo dos dois anéis aromáticos. Eles formam um grupo com mais 680 alcalóides relatados incluindo os aporfinicos, oxoaporfinicos e dioxiaporfinicos, aristolactamas, azafluorantenos e proaporfinicos.⁴⁻⁸

Os alcalóides aporfinicos são amplamente distribuídos em plantas e apesar de serem mais comumente encontrados na família Papaveraceae eles também foram isolados nas famílias Araceae, Lauraceae e Momiaceae.²⁰

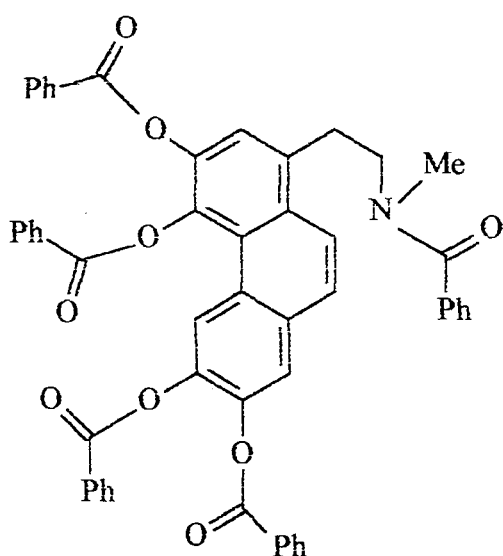
Alguns alcalóides aporfinicos possuem atividade biológica. Um dos mais estudados recentemente é o d-dicentrina que tem demonstrado importante efeito citotóxico contra várias linhagens de células tumorais. *In vitro* o d-dicentrina apresenta efeito citotóxico contra cerca de 21 linhagens de células

tumorais as quais pertencem a sete tipos de tecidos diferentes, incluindo melanoma maligno, carcinoma pulmonar, adenocarcinoma de colon, carcinoma do esôfago, hepatoma, linfoma e leucemia. O d-dicentrina inibe a biossíntese de macromoléculas como o DNA por ser um inibidor da topoisomerase II, além de exercer atividade anti agregação plaquetária em animais e também como antagonista α_1 -adrenoceptor.²¹

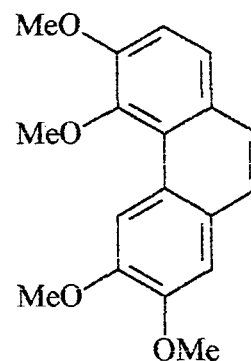
A estrutura definitiva de um grande número de alcalóides aporfinicos foi deduzida após muitos anos de degradações químicas cuidadosas seguidas por sucessivas sínteses.²⁰ O primeiro alcalóide que apresentava estrutura aporfinica foi a glaucina (56), isolada da *Glaucium luteum* (1839) e *Corydalis cava*. A sua estrutura foi proposta com base na clivagem com cloreto de benzoíla e pela degradação de Hoffman gerando o fenantreno (57), que foi posteriormente convertido em 2,3,5,6-tetrametoxifenantreno (58) por oxidação e descarboxilação. Esta estrutura foi confirmada pela síntese dos alcalóides da papaverina. As estruturas de outros alcalóides aporfinicos foram determinadas de maneira similar.²⁰



56



57



58

Mais recentemente, os métodos espectroscópicos têm se tornado tão refinados, particularmente a espectroscopia de RMN de alta resolução, que as estruturas dos novos alcalóides são, em muitos casos, inteiramente assinaladas com base em seus espectros de RMN. O espectro no ultravioleta dos cromóforos dos aporfinóides é determinado pelo número e a posição dos substituintes oxigenados neste sistema, sendo pouco afetado pela sua natureza (OH, OMe ou O₂CH₂).²⁰

A constatação de que alcalóides estavam presentes no "screening" fitoquímico realizado no extrato etanólico de folhas de *Ocotea puberula* motivou a realização de um estudo direcionado ao isolamento desta classe. Para isso foi feita uma extração específica para alcalóides.

2-OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é isolar e identificar as estruturas dos metabólitos secundários mais abundantes que ocorrem nas folhas de um espécimen de *Ocotea puberula*, coletado em Curitiba, Paraná.

Através deste trabalho pretende-se também identificar, por comparação, os principais constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas e galhos deste espécimen.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- Especificação dos Materiais e Equipamentos

O tipo de fase estacionária utilizada variou de acordo com o tipo de separação. Para cromatografia em coluna filtrante sob pressão reduzida e, para cromatografia em coluna (à pressão atmosférica) utilizou-se sílica gel Si-60 da Merck, partículas de 63- 210 μ m. Para CCDC e CCDP utilizou-se como adsorvente Si 60 PF₂₅₄ da MERCK .

Para revelações dos cromatogramas obtidos em placas comparativas utilizou-se reagente de Dragendorff²² e irradiação no UV (254 e 366 nm) e em placas preparativas foi utilizado irradiação no UV (254 e 366 nm).

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram obtidos a 300 e 75 MHz respectivamente, utilizando-se como solventes e padrão de referência interna CDCl₃ e CD₃OD.

Para o composto **8** foi obtido, também, espectros de RMN de ^1H e ^{13}C a 500 e 125 MHz utilizando-se como solvente e padrão de referência interna CDCl_3 .

Os espectros no infravermelho foram obtidos em aparelho da marca Bomeu MB-100, em filme líquido, utilizando-se clorofórmio como solvente.

3.2- Estudo Fitoquímico de Folhas de *Ocotea puberula*.

3.2.1-Coleta e obtenção dos extratos

O material vegetal foi coletado em 10 de julho de 1999, de um espécimen nativo existente em uma pequena reserva no Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba. A exsicata deste espécimen encontra-se depositada no Herbário do Departamento de Botânica da UFPR.

As folhas foram secas em estufa a 40°C , por três dias resultando em 615g as quais foram, posteriormente, trituradas e extraídas em extrator Soxhlet por 28 horas utilizando-se etanol como solvente. O solvente foi evaporado em um evaporador rotativo, obtendo-se 170g de extrato etanólico bruto. Este foi solubilizado em HCl 10% e extraído com CH_2Cl_2 o que resultou na fração F.DCM 1. A parte ácida foi alcalinizada com NH_4OH 25% até pH 9-10 e extraída novamente com CH_2Cl_2 . A fração orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro e após concentração em evaporador rotativo resultou em 3,54 g de fração alcaloídica, chamada de fração F.DCM 2.

3.2.2-Fracionamento cromatográfico

A fração alcaloídica F.DCM 2 (3,54g) foi submetida a cromatografia em coluna filtrante sob pressão reduzida, eluindo com os sistemas de solvente: hexano; DCM; DCM/metanol (1:1) e metanol, que depois de evaporados resultaram nas frações: FH₂ (28mg); FD₂ (115mg); FDM₂ (2.644mg); FM₂ (401mg)

A extração dos alcalóides, bem como o fracionamento preliminar da fração alcaloídica F.DCM 2 é mostrado na **Figura 2**.

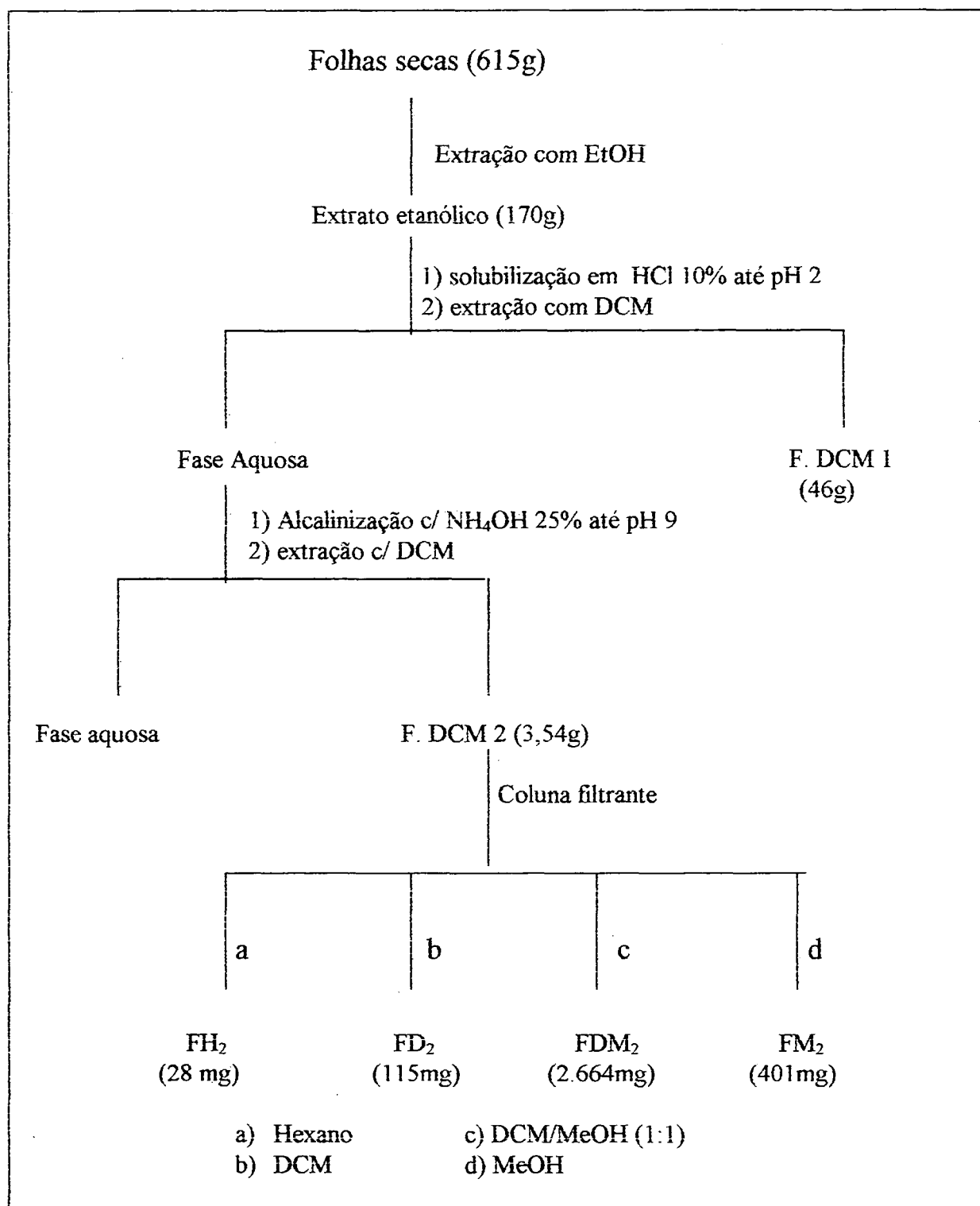


Figura 2- Fluxograma da extração e fracionamento do extrato etanólico de folhas de *Ocotea puberula*.

3.2.2.1- Fração hexânica- FH₂

A fração FH₂ foi submetida a cromatografia de camada delgada preparativa, sendo isolado uma substância, cujo espectros de RMN mostraram tratar-se de uma substância de natureza graxa.

3.2.2.2- Fração diclorometano FD₂

A fração diclorometânica FD₂ (115mg), foi submetida a cromatografia em coluna com 33g de sílica-gel, sendo eluída com gradiente de hexano/diclorometano. Foram recolhidas frações de aproximadamente 5mL, que depois de agrupadas resultaram em 14 frações, a pequena quantidade de amostra e a grande complexidade destas frações não permitiram que fosse isolada nenhuma substância.

3.2.2.3- Fração diclorometano/metanol FDM₂

A fração FDM₂ (2.664mg), foi submetida a uma nova coluna filtrante, usando gradiente de diclorometano/metanol, que após a evaporação do solvente resultaram nas seguintes frações: FDM₂-1(59mg); FDM₂-2 (885mg); FDM₂-3 (1332mg); FDM₂-4 (118mg); FDM₂-5 (69mg); FDM₂-6 (27mg); FDM₂-7 (23mg).

A fração FDM₂-1 foi submetida a cromatografia de camada delgada, usando como solvente hexano/diclorometano (2:8), sendo isolado o composto IX (7mg) ainda não identificado.

A fração FDM₂-3 foi submetida a cromatografia em coluna aberta (CC) com 83g de sílica-gel usando gradiente de hexano/éter etílico/metanol como fase móvel, foram coletadas frações de aproximadamente 5mL, que após análises por CCDC foram agrupadas resultando em 31 frações, algumas destas frações foram novamente submetidas a cromatografia em sílica-gel e/ou camada delgada, resultando em 8 substâncias puras.

A seguir é apresentado o fluxograma do fracionamento da fração FDM₂ (**Figura 3**), no qual apenas as frações trabalhadas encontram-se indicadas. As demais não foram analisadas seja porque constituem misturas muito complexas e com pouca quantidade de material ou continham material graxo.

As frações: FDM₂-2; FDM₂-4 e FDM₂-7 ainda não foram estudadas.

3.2.2.4 – Fração metanólica FM₂

Esta fração ainda não foi trabalhada.

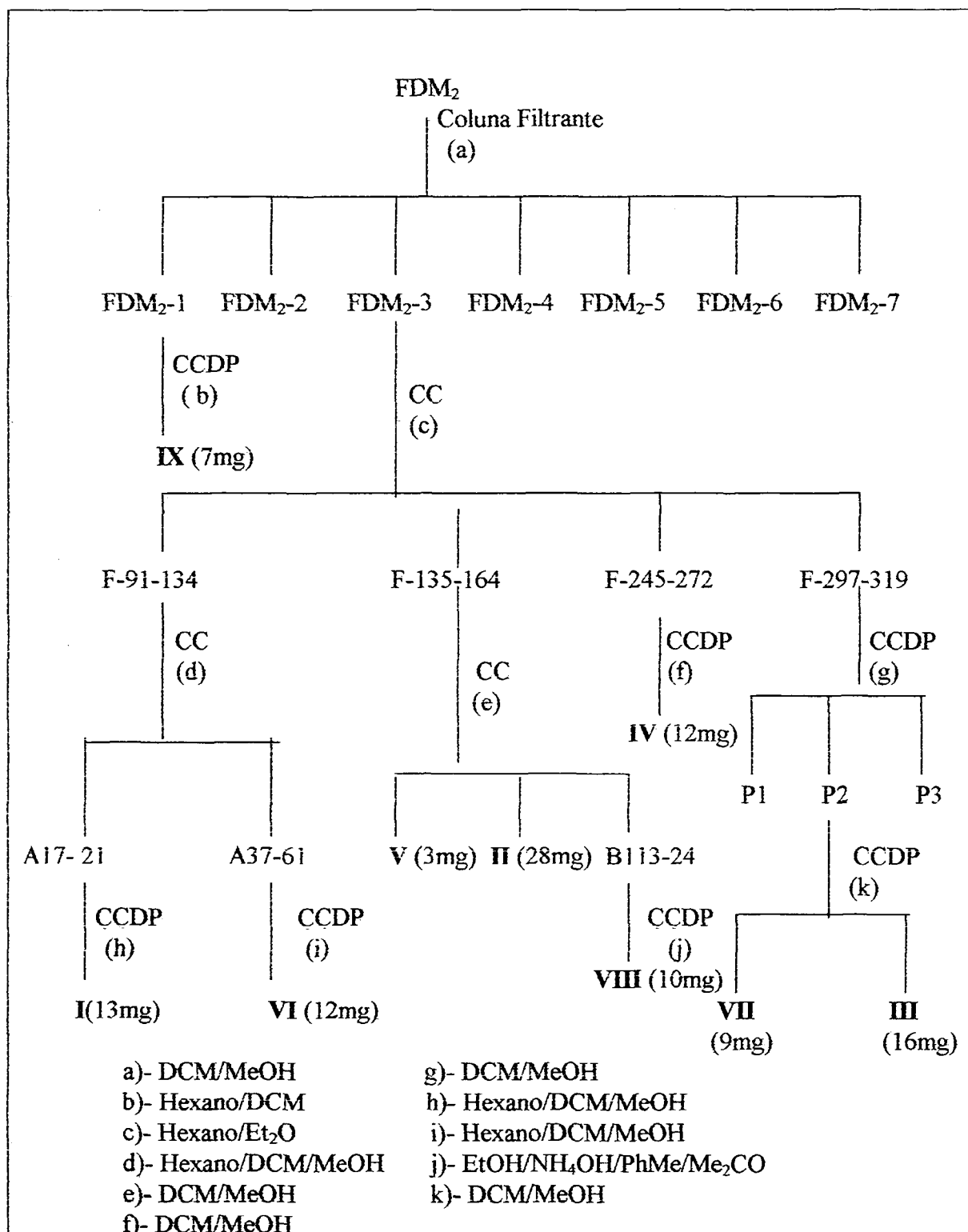


Figura 3- Fluxograma do fracionamento da fração DCM/metanol (FDM₂) de folhas de *Ocotea puberula*.

3.3 – Análise do Óleo Essencial das Folhas e Galhos de *Ocotea puberula* (Lauraceae)

As folhas e galhos de *Ocotea puberula* foram coletadas de um espécimen localizado no Centro Politécnico da UFPR. O material fresco (80g de folhas e 160g de galhos) foi submetido à extração por hidrodestilação durante 4 horas em um extrator Clevenger modificado.²³ Os óleos essenciais em solução etérea obtidos, depois de secos com sulfato de sódio, foram acondicionados em recipientes vedados e guardados no freezer.

Os óleos foram analisados por CG/EM (equipamento Varian Saturn 2000, sob as seguintes condições: coluna VA-5 (30 x 0,25 x 0,25), temperatura do injetor 250°C, rampa de aquecimento 60°C- 3°C/min. – 240°C.

A partir da análise dos cromatogramas de co-injeção dos óleos essenciais com uma série homóloga de n-alcenos (C-8 a C-22) calculou-se o índice de retenção (IR) através da equação de Van den Dool e Kratz²⁴ para cada componente presente nas amostras e comparou-se este com os da literatura.²⁵

Equação de Van den Dool e Kratz

$$IR = 100.N. \frac{[t_x - (t_{n-1})]}{[t_n - (t_{n-1})]} + 100(C_{n-1})$$

Onde :

$$N = C_n - (C_{n-1})$$

C_n = n° de carbonos do n-alcano que elui após a substância analisada.

$C_n - 1$ = n° de carbonos do n-alcano que elui antes da substância analisada.

t_x = tempo de retenção da substância analisada.

t_n = tempo de retenção do n-alcano que elui após a substância analisada.

T_{n-1} = tempo de retenção do n-alcano que elui antes da substância analisada.

A identificação dos principais constituintes se deu pela comparação dos índices de retenção e de seus respectivos espectros de massa.

4-RESULTADOS E DISCUSSÃO

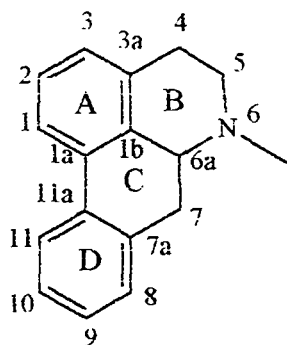
O estudo fitoquímico das folhas de *Ocotea puberula* apontou para alcalóides como a classe de metabólitos secundários de acúmulo, e após extração ácido-base específica para alcalóides, forneceu 9 substâncias puras, as quais foram analisadas através de métodos espectroscópicos de RMN ^1H , RMN ^{13}C (PND e DEPT 90 e 135°), HETCOR e COSY e também através de espectrometria de massas e no infravermelho. Uma das substâncias não teve sua estrutura determinada, as demais foram identificadas como os alcalóides aporfinicos ocoteína (I), dicentrina (II), predicentrina (III), N-metil-laurotetanina (IV), isodomesticina (V), leucoxina (VI), 3-hidroxicentrina (VII) e N-óxido dicentrina (VIII). Destas, somente a ocoteína (I) havia sido isolada desta espécie^{16,17}. Os alcalóides II a VI são conhecidos, porém isolados pela primeira vez nesta espécie. Os alcalóides VII e VIII são inéditos como produto natural, sendo que o composto VIII já havia sido obtido por síntese.²⁵

No processo de determinação ou elucidação estrutural de um metabólito secundário o primeiro passo consiste em se definir a classe a que este pertence e o esqueleto carbônico que possui. E, num segundo instante, resta caracterizar os grupos funcionais presentes e a localização destes na cadeia, de forma a se elaborar uma proposta compatível com os dados espectrométricos.

O fato de já terem sido isolados quatro alcalóides aporfinicos da espécie *Ocotea puberula*^{4,5}, assim como o teste positivo para o reagente de Dragendorff apresentado por todas as substâncias isoladas neste trabalho (exceto a substância não identificada (IX)), direcionou a análise dos espectros para esta classe de compostos. Uma forte indicação de que as substâncias

isoladas pertenciam, realmente, a classe dos aporfinóides foi dada pelos espectros de RMN ^1H que apresentaram sinais relativos a hidrogênios aromáticos (δ 6,5 a 8,5) e alifáticos (δ 2,5 a 3,5), metoxilas aromáticas (δ 3,5 a 4,0) e/ou hidrogênios de grupo metilenodioxílico (aproximadamente δ 6,0) além de metilas ligadas a nitrogênio (aproximadamente δ 2,5). Os espectros de RMN ^{13}C também evidenciaram tratar-se de compostos aromáticos, com os valores de deslocamento químico para os carbonos sp^2 e sp^3 coerentes com o esqueleto aporfinóide.^{27,28}

Estruturalmente, este grupo de substância se caracteriza pelos núcleos tetraidroisoquinolínico e diidrofenantrênico, como mostrado abaixo (com a numeração em conformidade com a literatura).



Os espectros de RMN ^1H destas substâncias fornecem informações que, na maioria dos casos, permitem definir seus padrões de substituição. As absorções características observadas nos espectros são mencionadas na **tabela 2**.^{4-8, 27,28}

Tabela 2- deslocamentos químicos característicos dos grupos substituintes ligados aos anéis A e D.

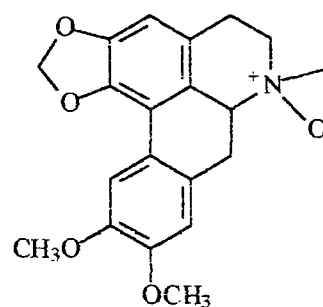
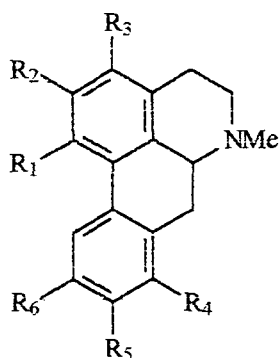
Substituinte	Posição da subst.	Deslocamento ^1H	Característica do sinal
O_2CH_2	1/2 ou 10/11	$\pm 6,0$ ppm	2 dubletes $\Delta = 0,15$ ppm
O_2CH_2	Qualquer outra posição	$\pm 6,0$ ppm	2 dubletes $\Delta = 0,05$ ppm
OCH_3	1 (p/ 1 e 2 substituídos)	Entre 3,4 e 3,7 ppm	Singleto
OCH_3	11 (p/ C-9 e C-10 substituídos)	Entre 3,6 e 3,8 ppm	Singleto
OCH_3	Qualquer outra posição	Entre 3,8 e 4,0	Singleto
H	3 (p/ C-1 e C-2 substituídos)	Entre 6,4 e 6,7 ppm	singleto
H	11(p/ C-9 e C-10 substituídos)	Entre 7,5 e 8,2 ppm	singleto
H	11(p/ C-8, C-9 e C-10 substituídos)	Entre 6,7 e 7,4	Singleto
H	Anéis B e C	Entre 2,5 e 3,5	multipletos
CH_3	6	Entre 2,5 e 3,5	singleto

É importante salientar que não foi constatada nenhuma evidência espectroscópica de substituição nos anéis B e C.

Estes dados foram fundamentais na elaboração das propostas estruturais para os alcalóides aporfinicos isolados de *Ocotea puberula*.

4.1-Alcalóides aporfinicos de *Ocotea puberula*

Com base nas informações mencionadas no item anterior foi possível propor as estruturas dos alcalóides aporfinicos obtidos de *Ocotea puberula*, a saber, ocoteína (I), dicentrina (II), predicentrina (III), N-metil-laurotetanina (IV), isodomesticina (V), leucoxina (VI), 3-hidroxicentrina (VII), N-óxido dicentrina (VIII) e a substância ainda não identificada (IX). As estruturas de I a VIII são mostradas a seguir.



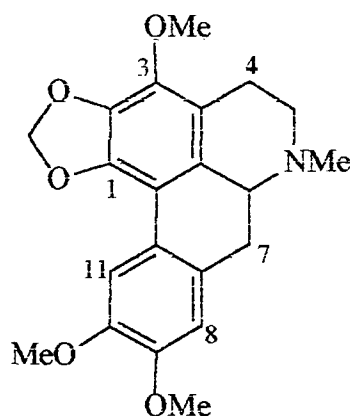
(VIII)

- (I) $R_1=R_2=O_2CH_2$; $R_3=R_5=R_6=OCH_3$; $R_4=H$
 (II) $R_1=R_2=O_2CH_2$; $R_3=H$; $R_5=R_6=OCH_3$; $R_4=H$
 (III) $R_1=OCH_3$; $R_2=OH$; $R_3=H$; $R_5=R_6=OCH_3$; $R_4=H$
 (IV) $R_1=R_2=OCH_3$; $R_3=H$; $R_5=OCH_3$; $R_6=OH$; $R_4=H$
 (V) $R_1=OCH_3$; $R_2=OH$; $R_3=H$; $R_5=R_6=O_2CH_2$; $R_4=H$
 (VI) $R_1=R_2=O_2CH_2$; $R_3=H$; $R_5=R_6=OCH_3$; $R_4=OH$
 (VII) $R_1=R_2=O_2CH_2$; $R_3=OH$; $R_5=R_6=OCH_3$; $R_4=H$

Os espectros de RMN ^1H (300 MHz), RMN ^{13}C (75,45 MHz) e DEPT 135° e 90° e os espectros de massas de **I a VIII** são mostrados no anexo 1, sendo que para os compostos **I a VII** foram obtidos espectros de massas de baixa resolução e para **VII e VIII** de alta resolução. Para **VIII** foram obtidos, ainda, espectros de RMN ^1H e ^{13}C de 500 e 125 MHz, respectivamente. Os espectros no infravermelho foram obtidos apenas para os compostos **IV, V e VI**.

A determinação estrutural de cada uma delas é apresentada detalhadamente a seguir.

Determinação estrutural de I



I

A identificação estrutural do alcalóide **I** foi feita com base na análise dos seus espectros de massas e de RMN ^1H e ^{13}C . O espectro de RMN ^{13}C (PND) (**fig. 16**, pag. 73) mostrou a presença de 20 sinais sendo 11 sp^2 e 9 sp^3 . Após análise do espectro DEPT 135° e 90° (**fig. 17**, pag.74) constatou-se tratar de 9 carbonos quaternários, 3 carbonos metínicos, 4 carbonos metilênicos e 4 carbonos metílicos.

No espectro de RMN ^1H (**figura 15**, pag.72) foram observados 2 singletes, um em δ 7,6 (1H) e outro em δ 6,8 (1H) indicando tratar-se de hidrogênios aromáticos. O que foi confirmado pela presença de dois sinais de carbonos metínicos em δ 110,0 e 111,1. Outros três singletes em δ 3,90 (3H), δ 3,91(3H) e δ 4,01 (3H) indicavam a presença de três grupos metoxílicos ligados a anel aromático. Foram observados ainda dois dubletes (1H cada) em δ 5,94 e δ 6,09 ($J=1,3$ Hz), que são típicos de hidrogênios do grupo

metilenodioxílico em C-1/C-2. O sinal de carbono cetálico deste grupo também é bastante característico e apareceu em δ 100,4.

O posicionamento do grupo metoxílico no C-3 foi feito com base na ausência do sinal referente ao H-3 entre δ 6,4 e δ 6,7. A ausência de acoplamentos entre os hidrogênios aromáticos com deslocamento químico de δ 6,8 e δ 7,6 característico do H-8 e H-11, respectivamente, foram fundamentais na definição do padrão de substituição do anel D, com os grupos metoxílicos no C-9 e C10.

O singlete em δ 2,65 (3H) foi atribuído aos hidrogênios do grupo metílico ligado ao nitrogênio. Isto pôde ser confirmado mediante análise do HETCOR que correlacionou este sinal ao carbono metílico em δ 42,0 (característico de $\text{CH}_3\text{-N}$). Os hidrogênios alifáticos (H-4, H-5, H-6a e H-7) apareceram como multipletes entre δ 2,5 e δ 3,5. Já os sinais de carbonos 4, 5, 6a e 7 apresentaram deslocamentos químicos distintos, sendo que os carbonos 5 e 6a, por fazerem ligação com o nitrogênio, são mais desprotegidos e apresentaram sinais em δ 53,2 e 62,3 respectivamente enquanto os carbonos 4 e 7 absorveram em δ 23,6 e 34,1.

O espectro de massas (**fig. 18**, pag. 75) cuja fragmentação é mostrada na figura 4, apresentou como pico base o fragmento de m/z 369 que corresponde ao íon molecular. Um outro fragmento importante apresentado foi o de m/z 368 (96) que é típico de aminas cíclicas, as quais geram este fragmento pela perda de um hidrogênio α ao nitrogênio. Os fragmentos com m/z 354 (17), 338 (23) e 326 (37) são resultantes da perda do radical metila, metoxila e de $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$, respectivamente. Observou-se, ainda, os picos com m/z 311 e 295 que são

resultantes da perda de um radical metila e metoxila, repectivamente, concomitante com a abertura do anel B. Esta proposta de fragmentação é mostrada na **figura 4**.

A comparação dos dados espectroscópicos obtidos para o alcalóide **I** com os descritos na literatura⁴⁻⁸ (**Tabela 3**), permitiu identificá-lo como sendo o alcalóide aporfinico conhecido por ocoteína, que já havia sido isolado anteriormente da casca de *Ocotea puberula*.^{16,17}

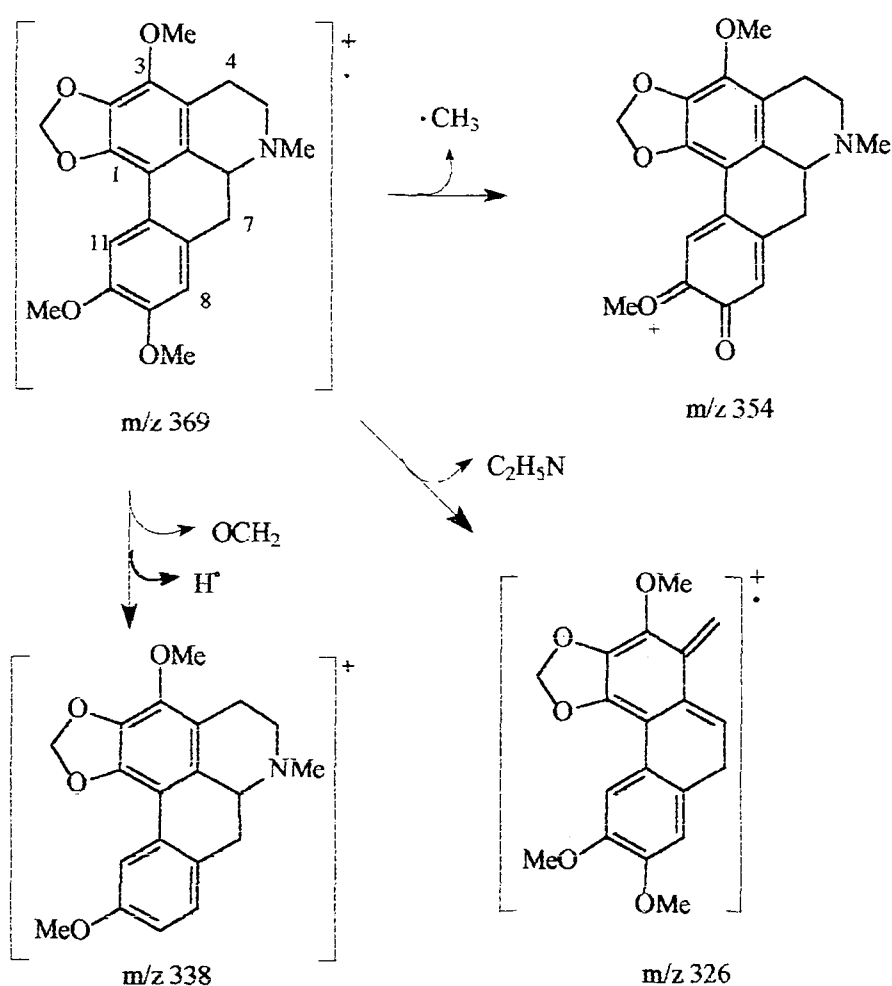


Figura 4- Proposta de fragmentação de massas para a ocoteína.

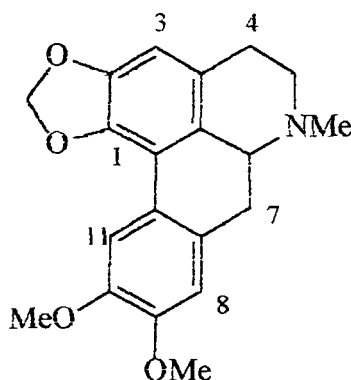
Tabela 3- Comparação dos valores de deslocamento químico dos carbonos de I com aqueles obtidos na literatura para ocoteína.

Carbono	δ ocoteína (CDCl ₃)	δ I (CDCl ₃)
1	143,2	143,9
1a	110,4	111,2
1b	127,4	126,6
2	134,8	135,4
3	139,1	139,4
3a	119,1	118,3
4	23,6	22,1
5	53,2	52,7
6a	62,3	61,8
7	34,1	33,1
7a	127,4	n.o.*
8	111,1	111,4
9	147,5	148,0
10	147,5	148,0
11	110,0	110,2
11a	123,5	123,4
N-CH ₃	n.e.**	41,9
OCH ₂ O	100,4	100,8
OCH ₃ -3	59,3	59,4
OCH ₃ -9	56,0	56,0
OCH ₃ -10	55,8	55,8

* Sinal não observado.

** valor não encontrado na literatura.

Determinação estrutural de II



A identificação do alcalóide **II** foi feita com base na análise dos seus espectros massas e de RMN ^1H e ^{13}C . O espectro de RMN ^{13}C (PND) (**fig. 20**, pág.77) mostrou 20 sinais de carbono (12 carbonos sp^2 e 8 sp^3). A análise do espectro DEPT 135° e 90° (**fig. 21**, pág. 78) indicou a presença de 9 carbonos quaternários, 4 carbonos metínicos, 4 carbonos metilênicos e 3 carbonos metílicos.

No espectro de RMN ^1H (**fig. 19**, pág.76) foram observados os 2 singletes em δ 6,78 (1H), δ 7,67 (1H) que, assim como no alcalóide **I**, foram atribuídos ao H-8 e H-11 respectivamente. Um terceiro singlete em δ 6,52 é característico de hidrogênio ligado no C-3.

Os dois dubletes em δ 5,93 e δ 6,08 ($J=1,2$ Hz) integrando para 1H cada são típicos de hidrogênios do grupo metilenodioxílico em C-1/C-2, o que pôde ser confirmado pela presença do CH_2 cetálico em δ 100,6 no espectro de RMN ^{13}C . Observou-se, ainda, os dois singletes em δ 3,91 (3H) e δ 3,92 (3H)

referentes as metoxilas no C-9 e C-10 e o singlete típico de hidrogênios do grupo metílico ligado ao nitrogênio em δ 2,57 (3H). Os hidrogênios alifáticos H-4, H-5, H-6a e H-7 absorveram, novamente, como multipletes entre δ 2,5 e δ 3,4. Os sinais observados no espectro RMN ^{13}C referentes a parte alifática da molécula mostraram-se semelhantes aos apresentados pelo composto I.

A análise do espectro de massas (**fig. 22**, pág.79) de **II** mostrou o pico referente ao íon molecular em m/z 339 (72) coerente com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}$. O pico base, que é o M^+-1 , como no alcalóide anterior, foi atribuído a perda de um hidrogênio α ao nitrogênio. Foi possível observar ainda os picos referentes a perda de um radical metila em m/z 324 (12), de um radical metoxila em m/z 308 (12) e ainda o pico resultante da abertura do anel B com perda de $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$ em m/z 296. A **figura 5** mostra esta proposta de fragmentação de massas.

Toda esta análise e a comparação dos valores de deslocamentos químico de carbono para o alcalóide **II** com aqueles encontrados na literatura¹⁻⁵ (**Tabela 4**), permitiram identificá-lo como sendo o alcalóide aporfinico conhecido como dicetrina.

A estereoquímica relativa do alcalóide isolado não foi determinada, entretanto na literatura apenas a d-dicentrina é relatada. Há vários trabalhos sobre a atividade biológica da d-dicentrina, sendo que ela mostrou potencial atividade anticancerígena em estudos utilizando modelos *in vivo* e *in vitro* para várias linhagens de células tumorais além de atividade anti-agregação plaquetária em animais. Ela mostrou também ser um forte inibidor da biossíntese do DNA e RNA²¹.

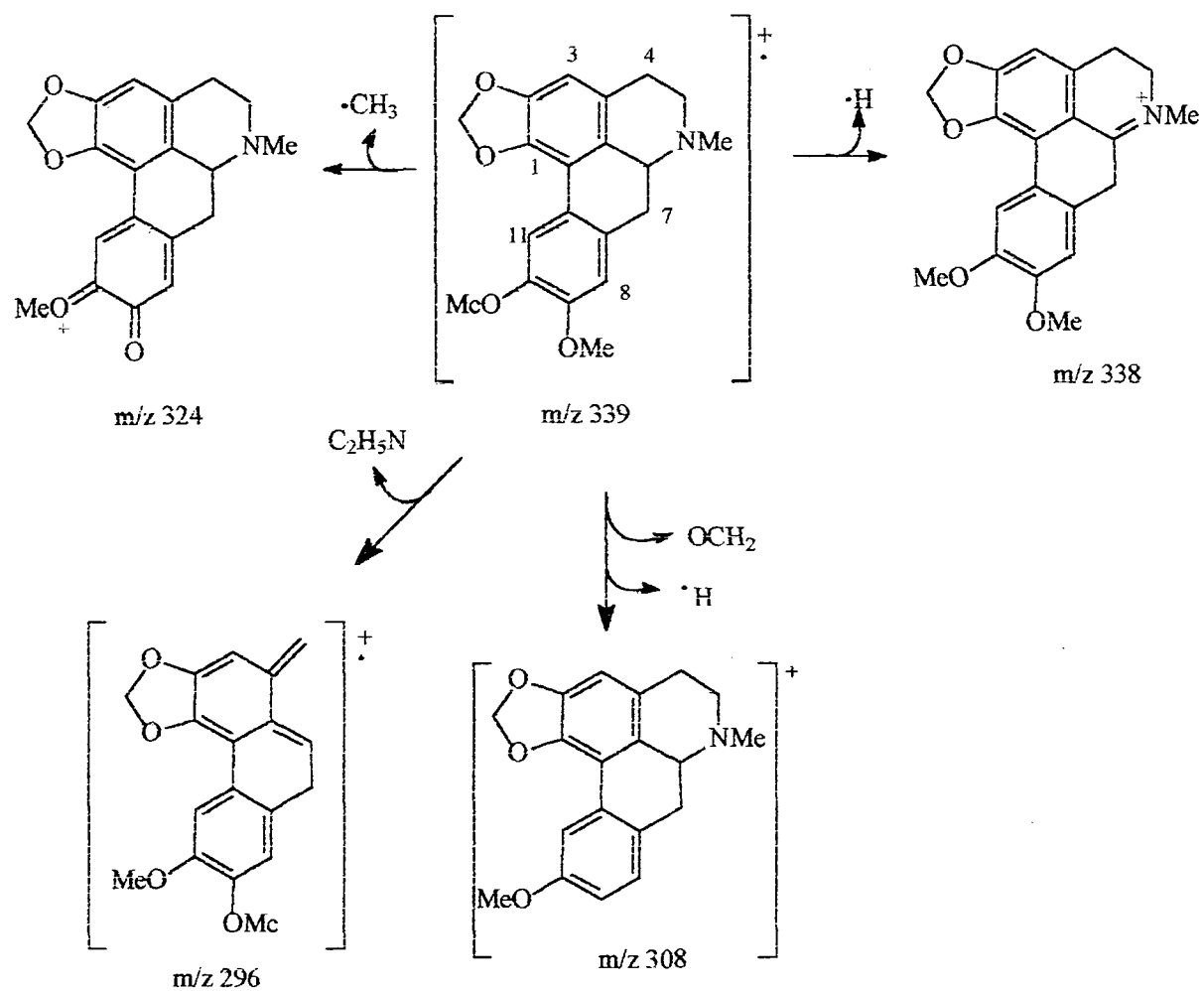
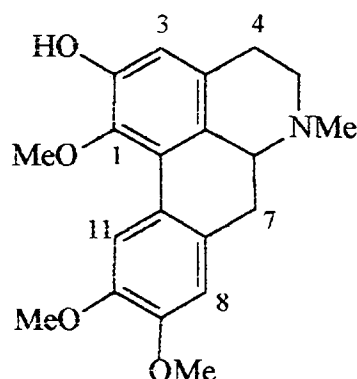


Figura 5- Proposta de fragmentação de massas para a dicentrina.

Tabela 4- Comparação dos valores de deslocamento químico dos carbonos de **II** com aqueles encontrados na literatura para a dicentrina.

Carbono	δ Dicentrina (CDCl ₃)	δ (II) (CDCl ₃)
1	141,7	141,9
1 ^a	116,6	116,7
1b	126,4	126,1
2	146,6	146,8
3	106,1	106,8
3a	126,6	126,5
4	29,2	28,8
5	53,6	53,4
6a	62,4	62,3
7	34,3	33,9
7a	128,3	128,3
8	110,5	111,8
9	148,2	148,4
10	147,6	147,8
11	111,2	110,8
11a	123,4	123,6
N-CH ₃	44,0	43,5
OCH ₂ O	100,2	100,6
OCH ₃ -9	56,1	56,1
OCH ₃ -10	55,9	55,9

Determinação estrutural de III



III

A identificação estrutural do alcalóide **III** foi feita com base na análise dos seus espectros de massas e de RMN ^1H e ^{13}C . O espectro de RMN ^{13}C (PND) (**fig. 24**, pág. 81) mostrou a 16 carbonos (10 sp^2 e 6 sp^3). Após análise do espectro DEPT 135° e 90° (**fig. 25**, pág.82) constatou-se tratar de 7 carbonos quaternários, 4 carbonos metínicos, 2 carbonos metilênicos e 3 carbonos metílicos.

No espectro de RMN ^1H (**fig. 23**, pág.80) foram observados 3 singletes em δ 8,03 , δ 6,86 e δ 6,66, todos integrando para um hidrogênio, indicando tratar-se dos hidrogênios aromáticos H-11, H-8 e H-3, respectivamente. Além destes sinais observou-se também 3 singletes em δ 3,94 (3H), δ 3,91 (3H) e δ 3,64, que foram atribuídos aos hidrogênios dos grupos metoxílicos ligados ao anel aromático, sendo que o singlete em δ 3,64 é característico deste grupo na posição 1. Já os outros dois sinais relativos as metoxilas, assim como nos alcalóides anteriores, nos permitiu posicioná-las em C-9 e C-10.

Observou-se, ainda, um singlete em δ 2,88 integrando para três hidrogênios, atribuído aos hidrogênios do grupo metílico ligado ao nitrogênio. A parte alifática dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C é semelhante a apresentada pelos alcalóides anteriores com os sinais referentes aos hidrogênios absorvendo como multipletes entre δ 2,8 e 4,0 e os sinais referentes aos carbonos 4, 5, 6a e 7 em δ 28,7; 53,3; 62,5 e 34,2 respectivamente.

A presença de 4 sinais de carbonos aromáticos bastante desprotegidos e a ausência de qualquer outro sinal relativo a hidrogênio aromático ou grupo metoxílico ligado ao anel aromático nos levou a propor que o quarto substituinte seria um grupo hidroxila que foi posicionado em C-2, justificando, assim o deslocamento químico observado para C-3 em δ 113, visto que, quando o substituinte nos carbonos vizinhos é o grupo metoxílico ou metilenodioxílico o C-3 encontra-se mais protegido, absorvendo em torno de δ 106.

O espectro de massas (**fig. 26**, pág. 83) apresentou como pico base o M-1 com m/z 340, o pico referente ao íon molecular em m/z 341 (98) também mostrou-se bastante intenso. Assim como nos alcalóides anteriores foi possível observar os picos referentes a perda do radical metila em m/z 326 (61), de radical metoxila m/z 310 (32) e o pico resultante da abertura do anel B em m/z 298 (28). O espectro apresentou, ainda, os picos referentes aos fragmentos resultantes da abertura do anel B concomitante com a perda de radicais metila (m/z 283) e metoxila (m/z 267). A **figura 6** mostra esta proposta de fragmentação.

Todos estes dados, e a comparação dos valores de deslocamentos químicos de carbono para o alcalóide **III** com aqueles encontrados na literatura

tura⁴⁻⁸ (Tabela 5), corroboraram para identificar esta substância como sendo o alcalóide aporfinico conhecido por predicentrina.

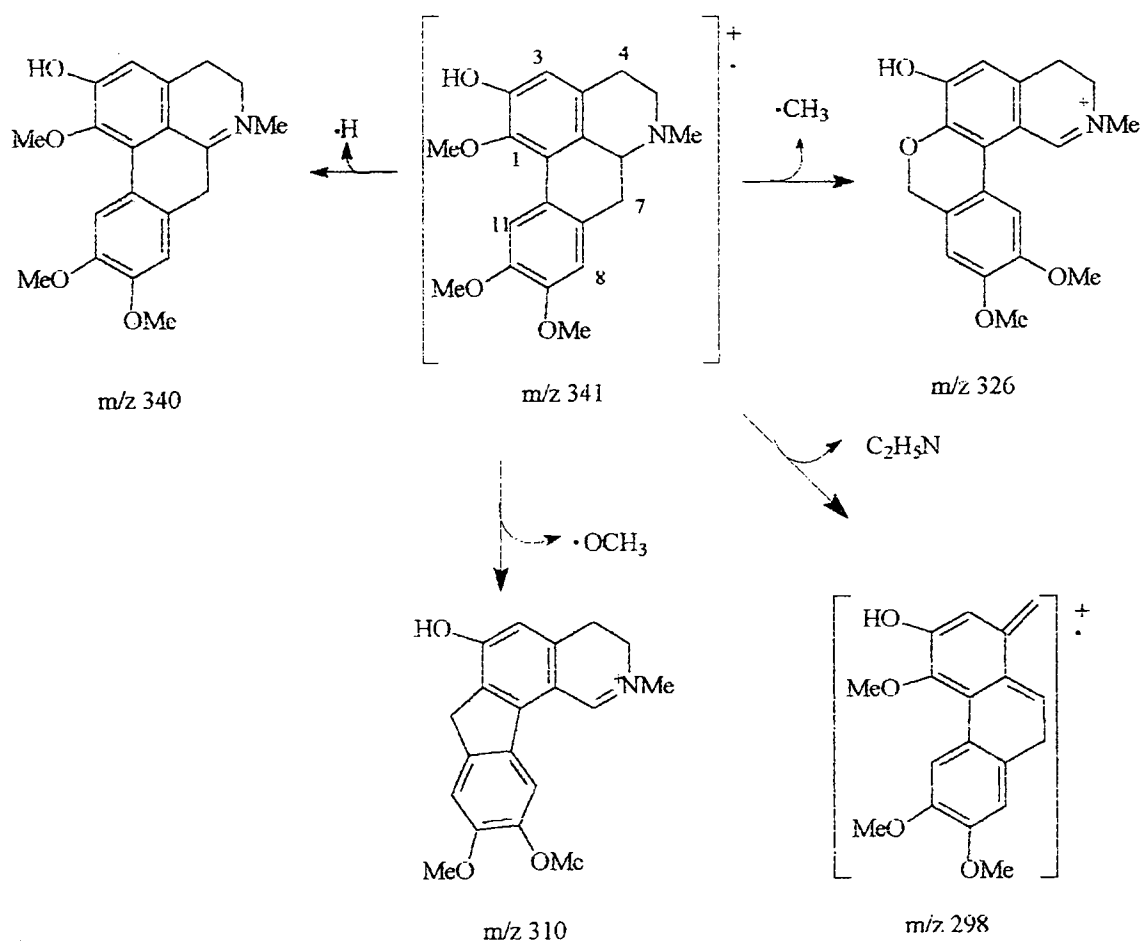


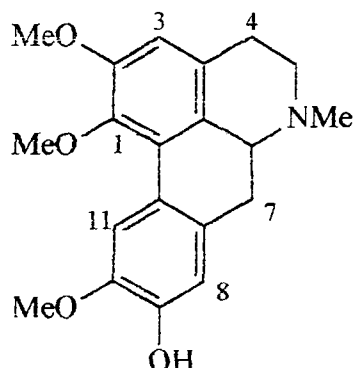
Figura 6- Proposta de fragmentação de massas para a predicentrina.

Tabela 5- Comparação dos valores de deslocamento químico dos carbonos de **III** com aqueles encontrados na literatura para a predicentrina.

Carbono	δ Predicentrina (CDCl ₃)	δ III (CDCl ₃ /CD ₃ OD)
1	142,3	144,9
1a	126,3	126,8
1b	125,9	126,8
2	148,2	151,8
3	113,5	115,1
3a	129,6	n.o. *
4	28,7	25,9
5	53,3	53,1
6a	62,5	62,9
7	34,2	32,3
7a	129,2	127,7
8	110,7	112,0
9	148,1	149,5
10	147,5	149,0
11	110,0	112,2
11a	124,1	124,7
N-CH ₃	43,8	43,0
OCH ₃ -1	60,3	60,4
OCH ₃ -9	55,8	56,3
OCH ₃ -10	56,0	56,4

* n.o. - Sinal não observado

Determinação estrutural de IV



IV

A identificação do alcalóide IV foi feita com base na análise dos seus espectros de massas, de RMN ^1H e ^{13}C e HETCOR (**fig. 30** pág. 87). O espectro de RMN ^{13}C (PND) (**fig. 28**, pág.85) mostrou 20 sinais de carbonos (12 sp^2 e 8 sp^3). Após análise do espectro DEPT 135° e 90° (**fig. 29**, pág.86) constatou-se tratar de 9 carbonos quaternários, 4 carbonos metínicos, 3 carbonos metilênicos e 4 carbonos metílicos.

No espectro de RMN ^1H (**fig. 27**, pág.84) foram observados, 3 singletes em δ 8,05 (1H), δ 6,81 (1H) e δ 6,58 (1H) que, assim como no alcalóide anterior, indicavam tratar-se do H-11, H-8 e H-3, respectivamente. Foi observado também o singlete característico dos hidrogênios do grupo metílico ligado ao nitrogênio em δ 2,59 (3H). E ainda 3 outros singletes em δ 3,65 (3H), δ 3,88 (3H) e δ 3,89 (3H), que indicavam tratar-se de hidrogênios de grupos

metoxílicos ligados a anel aromático, sendo que o sinal em δ 3,65 é característico deste grupo ligado a C-1.

Os sinais referentes aos hidrogênios alifáticos apresentaram-se como multipletes entre δ 2,5 e δ 3,4. O espectro de RMN ^{13}C para esta parte da molécula também mostrou-se semelhante ao apresentado pelos alcalóides anteriores.

A presença do grupo hidroxila como o quarto substituinte foi proposta com base no seu espectro no infravermelho (**fig.31**, pág.88) que apresentou a banda característica de deformação axial de OH de fenol em 3328 cm^{-1} . A presença de 4 sinais de carbonos abaixo de 140 ppm, também sugeriram a presença de um quarto substituinte. O posicionamento deste grupo em C-9 foi feito com base na comparação dos valores de deslocamento químico de carbono da substância analisada com aqueles encontrados na literatura^{4-8, 29} (**Tabela 6**) para o alcalóide aporfinico conhecido como N-metil-laurotetanina.

O espectro de massas (**fig.32**, pág.89) deste alcalóide mostrou-se semelhante àquele apresentado pelo alcalóide **III**, o que já era esperado, pois eles diferem apenas pela localização do grupo hidroxílico. A proposta de fragmentação para o alcalóide **IV** é mostrada na **figura 7**.

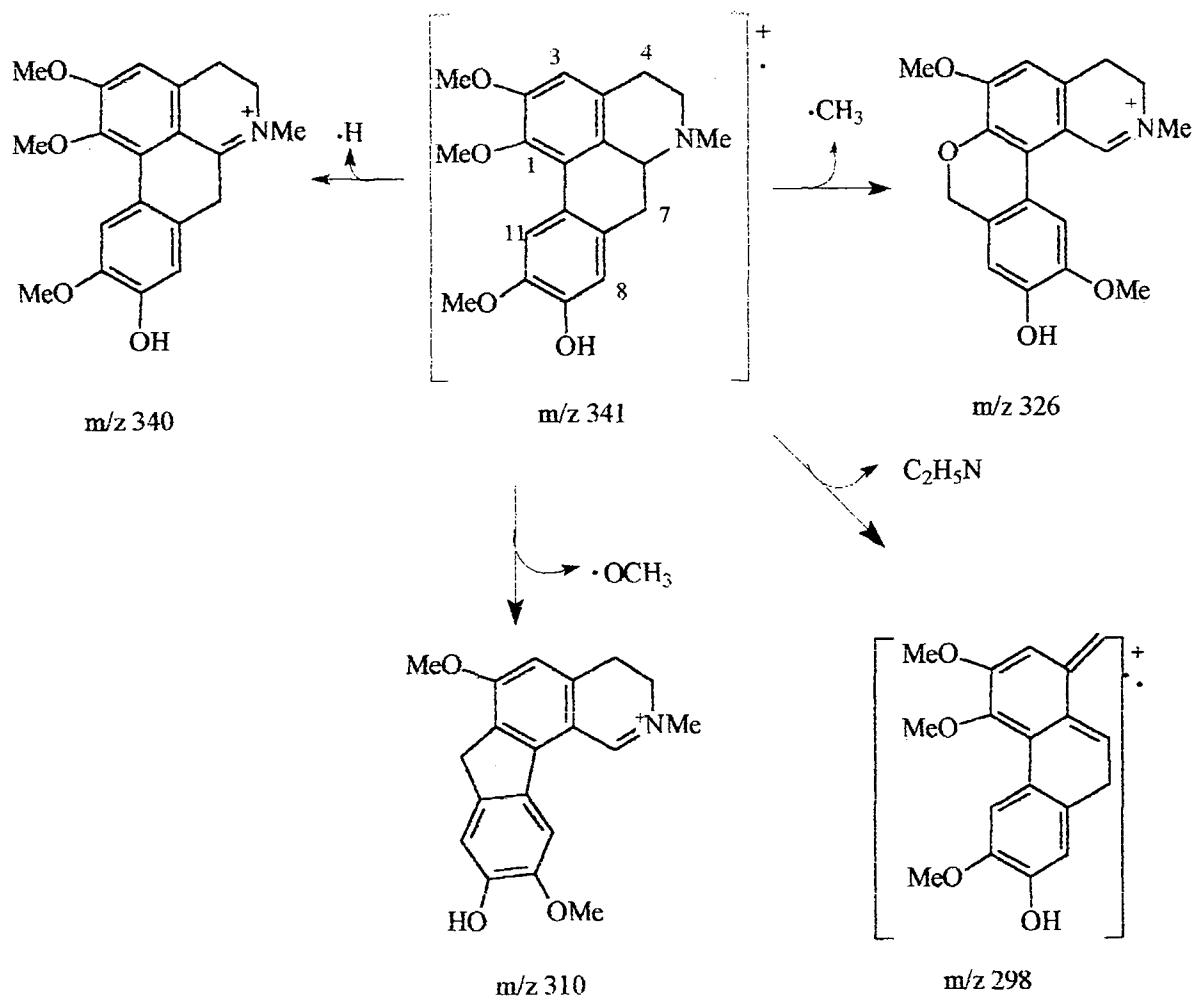


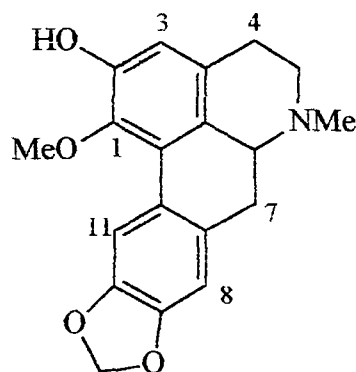
Figura 7- Proposta de fragmentação de massas para a N-metil-laurotetanina.

Tabela 6- Comparação dos valores de deslocamento químico de carbono de **IV** com aqueles encontrados na literatura para a N-metil-laurotetanina.

Carbono	δ N-metil-laurotetanina (CDCl ₃)	δ IV (CDCl ₃)
1	144,1	144,7
1a	126,7	n.o.*
1b	127,0	127,4
2	151,9	152,7
3	110,1	110,4
3a	128,6	128,2
4	28,8	28,1
5	53,1	53,1
6a	61,4	62,5
7	33,9	33,5
7a	129,8	129,4
8	111,2	114,2
9	145,3	145,7
10	144,9	145,3
11	114,0	111,4
11a	123,7	123,9
N-CH ₃	43,6	42,9
OCH ₃ -1	60,0	60,3
OCH ₃ -2	55,7	55,9
OCH ₃ -9	55,9	56,1

* sinal não observado.

Determinação estrutural de V



V

A identificação do alcalóide V foi feita com base na análise dos seus espectros massas e de RMN ^1H e ^{13}C . O espectro de RMN ^{13}C (PND) (**fig.34**, pág.91) mostrou 19 sinais de carbono (12 sp^2 e 7 sp^3). Após análise do espectro de DEPT 135° e 90° (**fig.35**, pág.92) constatou-se tratar de 9 carbonos quaternários, 4 carbonos metínicos, 4 carbonos metilênicos e 2 carbonos metílicos.

No espectro de RMN ^1H (**fig.33**, pág.90) foram observados, novamente, os três singletes característicos de hidrogênios aromáticos em δ 7,81 (1H), δ 6,76 (1H) e δ 6,67 (1H) que, assim como no alcalóide anterior foram atribuídos ao H-11, H-8 e H-3 respectivamente. Observou-se também um singlete típico de hidrogênios do grupo metoxílico ligado a anel aromático em δ 3,59 (3H), mais protegido, que é característico deste grupo ligado ao C-1 e um outro

singlete em δ 2,67 (3H) que foi atribuído aos hidrogênios do grupo metílico ligado ao nitrogênio.

O espectro mostrou ainda dois dubletes, integrando para 1 hidrogênio cada, em δ 5,98 e δ 6,00 ($J=1,2\text{Hz}$) que são típicos de hidrogênios do grupo metilenodioxílico ligado a C-9/C-10. O sinal referente ao carbono deste grupo que também é bastante característico aparece em δ 101,1.

A ausência de qualquer outro sinal relativo a hidrogênio aromático ou outro substituinte, bem como a presença de 4 sinais de carbonos quaternários abaixo de 142 ppm e a observação, no espectro no infravermelho (**fig. 37**, pág.94), de uma banda larga em torno de 3300cm^{-1} nos levou a propor a presença de um grupo hidroxílico no C-2.

O padrão de substituição descrito acima indicou tratar-se do alcalóide aporfinico conhecido como isodomesticina. Como não foi encontrado na literatura nenhum dado referente aos valores de deslocamento químico de carbono para esta substância, a atribuição dos deslocamentos foi feita com base em duas substâncias modelos, a predicentrina que tem anel A igual a V e a nantenina que tem anel D igual a isodomesticina, conforme mostrado na **Tabela 7**. Os valores encontrados coincidiram com aqueles obtidos e os deslocamentos propostos para V foram confirmados pelas correlações observadas no HETCOR (**fig. 36**, pág.93)

O espectro de massas (**fig. 38**, pág.95) também apresentou valores coerentes com a estrutura proposta. O pico referente ao íon molecular, m/z 325 (85) corresponde a fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}$, sendo que o pico base m/z 324 corresponde a perda de hidrogênio. Os demais fragmentos observados se devem, novamente, a perda de radicais metila m/z 310 (31) e metoxila m/z 294

(40). O pico do fragmento resultante da abertura do anel B apresenta m/z 282 (32) e a perda dos radicais metila e metoxila por este fragmento foi responsável pelos picos em m/z 267 (20) e 251 (10). Esta proposta de fragmentação é apresentada na **figura 8**.

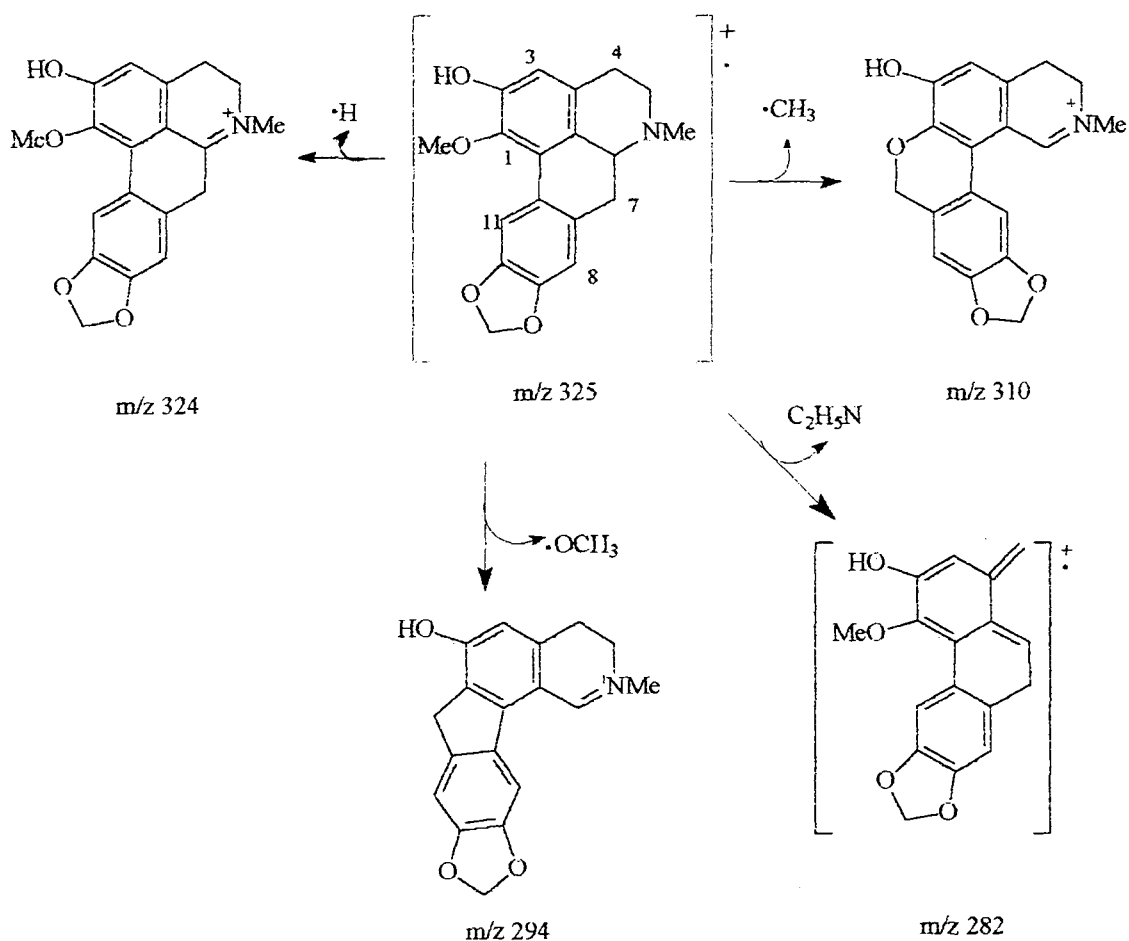


Figura 8- Proposta de fragmentação de massas para a isodomesticina.

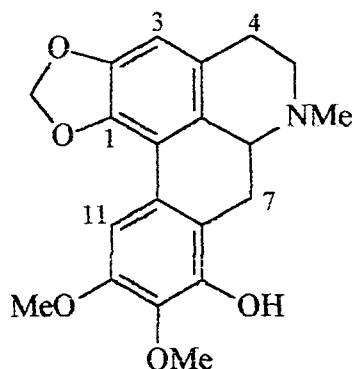
Tabela 7- Comparação dos valores de deslocamento químico dos carbonos de V com aqueles encontrados na literatura para a isodomeesticina.

Carbono	δ predicentrina (CDCl ₃)	δ nantenina (CDCl ₃)	δ V (CDCl ₃)
1	142,3*	144,0	142,8*
1a	126,3*	126,4	126,1*
1b	125,9*	128,2	125,0*
2	148,2*	151,4	148,9*
3	113,5*	110,3	113,6*
3a	129,6*	127,0	128,5*
4	28,7*	29,0	27,3*
5	53,3*	52,9	52,8*
6a	62,5*	62,1	62,1*
7	34,2	34,9**	33,8**
7a	129,2	130,4**	129,7**
8	110,7	107,8**	108,6**
9	148,1	146,0**	147,2**
10	147,6	145,9**	146,9**
11	110,0	108,4**	107,8**
11a	124,1	125,1**	125,0**
N-CH ₃	43,8*	43,6	42,3*
OCH ₂ O	-----	100,4**	101,1**
OCH ₃ -1	60,3*	59,8	60,4*

* Valores comparados com aqueles encontrados para a predicentrina.

** Valores comparados com aqueles encontrados para a nantenina.

Determinação estrutural de VI



VI

A identificação do alcalóide VI foi feita com base na análise dos seus espectros de massas e de RMN ^1H e ^{13}C . O espectro de RMN ^{13}C (**fig. 40**, pág. 97) mostrou 18 sinais de carbono, sendo 10 carbonos sp^2 e 8 sp^3 . Após análise do espectro DEPT 135° e 90° (**fig.41**, pág. 98) constatou-se tratar de 8 carbonos quaternários, 3 carbonos metínicos, 4 carbonos metilênicos e 3 carbonos metílicos.

No espectro de RMN ^1H (**fig. 39**, pág.96) foram observados dois singletes em δ 7,3 (1H) e δ 6,55 (1H) indicando tratar-se de hidrogênios aromáticos, sendo que o primeiro é típico de hidrogênio ligado ao C-11, quando C-8, C-9 e C-10 estão substituídos. Já o singlete em δ 6,55 é característico do H-3, o que foi confirmado pelo espectro de HETCOR (**fig. 42**, pág.99).

O espectro de RMN ^1H mostrou ainda 2 dubletes, integrando para 1 hidrogênio cada em δ 6,10 e δ 5,93 ($J = 1,4\text{Hz}$), deslocamentos químicos típicos de hidrogênios do grupo metilenodioxílico em C-1/C-2. A presença deste grupo foi confirmada pelo sinal característico apresentado pelo espectro de RMN ^{13}C em δ 100,8. Observou-se ainda, neste espectro, o singlete característico de hidrogênios do grupo metílico ligado ao nitrogênio em δ 2,69 (3H) e os dois singletes típicos de hidrogênios de grupo metoxílico ligado a anel aromático em δ 3,91 (3H) e δ 3,94 (3H).

A ausência do sinal referente ao hidrogênio no C-8 e a presença de apenas dois grupos metoxílicos ligados ao anel aromático nos levou a propor a presença de um grupo hidroxílico ligado ao anel aromático o que também pôde ser observado no espectro no infravermelho (**fig.43**, pág.100), pela banda de deformação axial de OH em 3273 cm^{-1} . O posicionamento deste grupo e conseqüentemente dos grupos metoxílicos só foi possível pela comparação dos valores de deslocamento químico de carbono com aqueles encontrados na literatura⁴⁻⁸ (**Tabela 8**) o que nos permitiu, também, confirmar a identificação do alcalóide VI como sendo a leucoxina.

O espectro de massas (**fig. 44**, pág.101) apresentou um padrão de fragmentação coerente com a estrutura proposta, apresentando o pico do íon molecular, m/z 355 (62) e o pico referente ao fragmento $M^+ - 1$ como pico base, que foi justificado pela perda de um hidrogênio α ao nitrogênio. Assim como nos alcalóides anteriores os picos mais importantes são aqueles gerados pela perda do radical metila, m/z 340 (39), metoxila m/z 324 (88) e do radical $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$ que apresentou m/z 312 (30). Foi possível, ainda, se observar os picos referentes aos fragmentos resultantes da perda dos radicais metila e metoxila,

concomitantemente com a abertura do anel B em m/z 297 e 281 respectivamente. A **figura 9** mostra a proposta de fragmentação para o alcalóide VI.

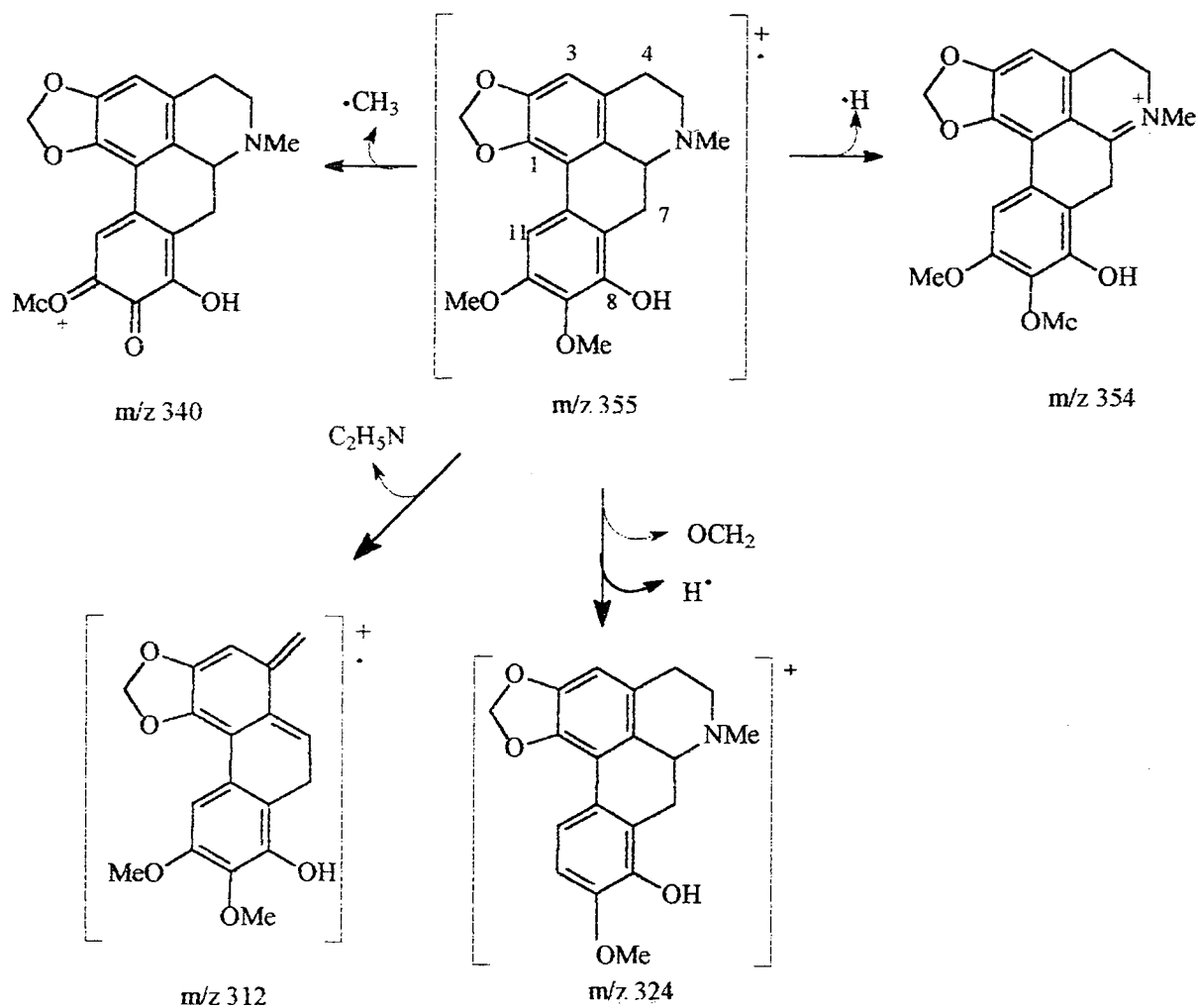


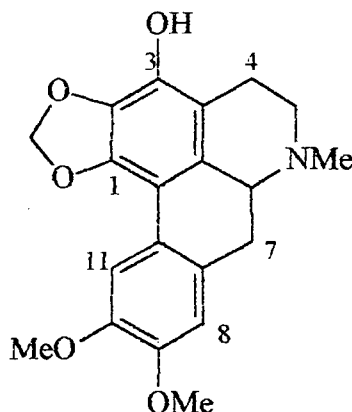
Figura 9- Proposta de fragmentação de massas para a leucoxina.

Tabela 8- Comparação dos valores de deslocamento químico dos carbonos de VI com aqueles encontrados na literatura para a leucoxina.

Carbono	δ Leucoxina (DMSO)	δ VI (CDCl ₃)
1	141,6	142,6
1a	116,0	116,7
1b	126,4	126,1
2	146,0	146,2
3	106,8	107,4
3a	126,7	126,7
4	28,7	28,2
5	52,9	53,2
6a	61,7	61,8
7	25,8	25,3
7a	115,6	n.o.*
8	146,8	147,1
9	135,9	135,1
10	150,8	150,8
11	102,4	103,2
11a	125,8	n.o.*
N-CH ₃	43,5	43,0
OCH ₂ O	100,4	100,8
OCH ₃ -9	60,2	61,0
OCH ₃ -10	55,6	55,9

* sinal não observado

Determinação estrutural de VII



VII

A identificação estrutural do alcalóide VII foi feita com base nos espectros de massas e de RMN ^1H e ^{13}C . O espectro de RMN ^{13}C (PND) (**fig. 46**, pág.103) mostrou 15 sinais de carbono (11 carbonos sp^2 e 4 sp^3). Após análise do espectro DEPT 135° e 90° (**fig. 47**, pág.104) constatou-se tratar de 9 carbonos quaternários, 2 carbonos metínicos, 2 carbonos metilênicos, e 2 carbonos metílicos.

No espectro de RMN ^1H (**fig. 45**, pág. 102) foram observados 2 singletes em δ 7,59 (1H) e δ 6,84 (1H) indicando tratar-se de hidrogênios aromáticos, cujos deslocamentos químicos são típicos do H-11 e H-8, respectivamente. Observou-se também um singlete integrando para 6 hidrogênios em δ 3,91 que é típico de hidrogênios de grupo metoxílico ligado a anel aromático.

O espectro apresentou ainda dois singletes em δ 6,00 (1H) e δ 6.15 (1H) que são característicos de hidrogênios de grupo metilenodioxílico ligado a C-

1/C-2. O sinal referente aos hidrogênios do grupo metílico ligado ao nitrogênio, apresentou-se como um singlete em δ 2,98. Os sinais dos hidrogênios alifáticos apareceram como multipletes entre δ 2,9 e δ 4,2. O espectro de RMN ^{13}C apresentou na região alifática os sinais referentes aos carbonos 4 e 7 em δ 21,9 e 31,3, no entanto os sinais referentes aos carbonos ligados ao nitrogênio, bem como o sinal referente ao C-1a, não apareceram no espectro, o que pode ser justificado pelo alto nível de ruído apresentado por este.

O posicionamento dos grupos metoxílicos em C-9 e C-10 foi feito com base na ausência de acoplamento químico entre os hidrogênios aromáticos e nos valores de deslocamentos químicos destes hidrogênios e o posicionamento de um grupo hidroxílico no C-3 foi proposto com base em 2 argumentos:

- 1- A ausência do sinal referente ao H-3 no espectro de RMN ^1H .
- 2- A simulação do efeito de um grupo hidroxílico em C-3 (**Tabela 9**) nos deslocamentos químicos dos carbonos do anel A da dicentrina mostrou valores coincidentes com aqueles observados para a substância **VII** no espectro de RMN ^{13}C . Não há dados referentes aos deslocamentos químicos de carbonos para a estrutura proposta, por tratar de estrutura inédita na literatura.

O espectro de massas de **VII** (**fig. 48**, pág.105) apresentou um padrão de fragmentação diferente daquele apresentado pelos alcalóides anteriores, pois não foi possível observar os picos referentes a perda dos radicais metila e metoxila, entretanto o pico bastante intenso em m/z 355.14178 coincidiu com o valor esperado para o íon molecular. O fragmento com m/z 308 pôde ser justificado pela perda do radical HOCH-O referente ao grupo metileno dioxílico mais um H radical. A perda deste grupo juntamente com a perda de

um radical metoxila levou ao fragmento de m/z 277 (14). A **figura 10** mostra esta proposta de fragmentação.

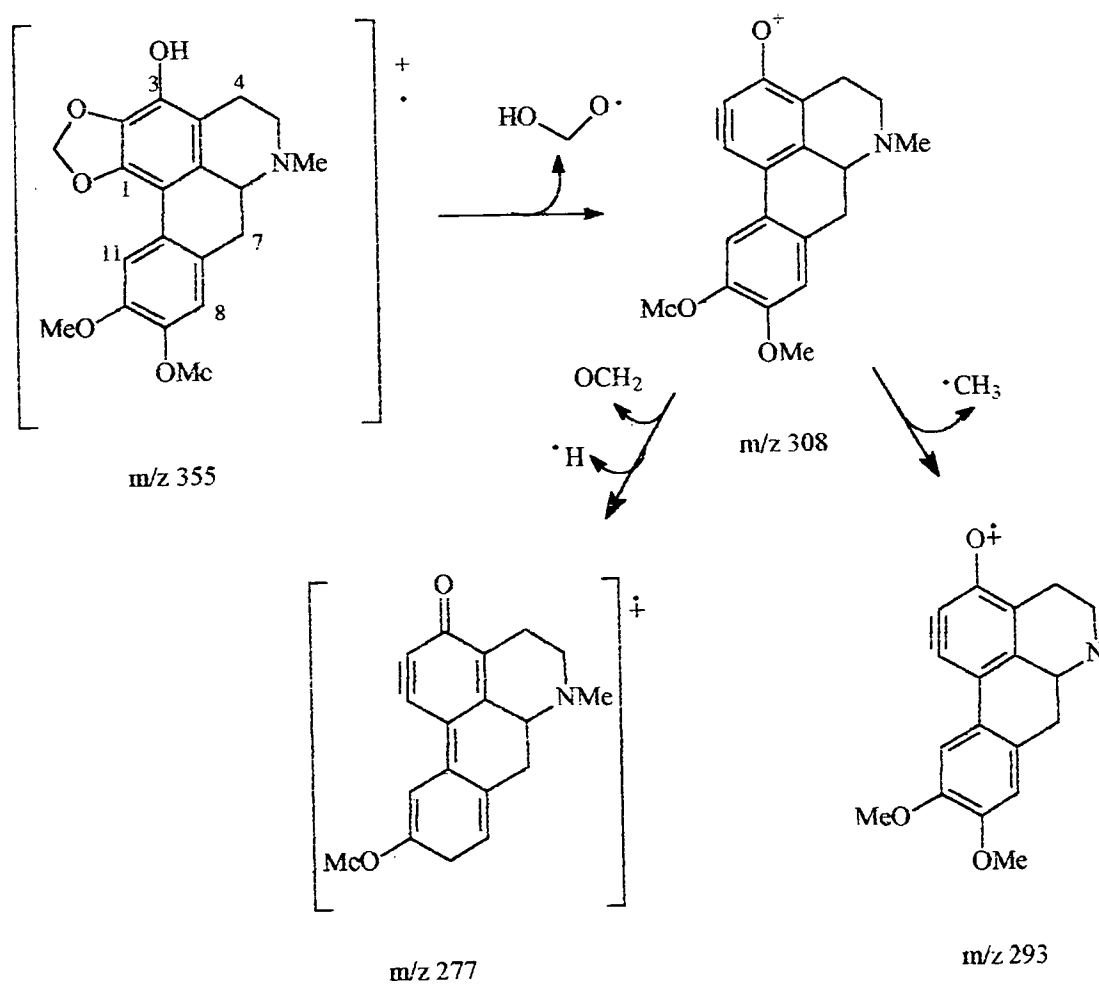


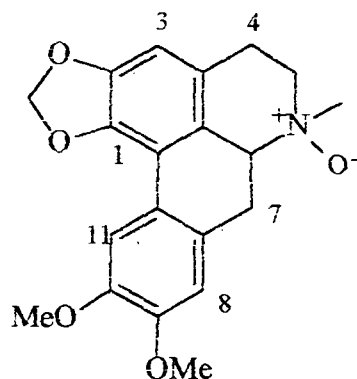
Figura 10- Proposta de fragmentação de massas para a 3-hidroxicentrina.

Tabela 9- Comparação dos valores de deslocamento químico dos carbonos de VII com aqueles encontrados com a simulação da 3-hidroxicentrina

Carbono	Simulação do δ da 3-hidroxicentrina	δ VII (CDCl ₃ /CD ₃ OD)
1	141,6	144,90
1a	109,2	n.o.*
1b	127,8	124,00
2	136,0	137,28
3	133,0	135,22
3a	113,8	114,41
4	29,2	21,95
5	53,6	n.o.*
6a	62,4	n.o.*
7	34,3	31,35
7a	128,3	126,20
8	110,5	110,42
9	148,2	148,83
10	147,6	148,47
11	111,2	111,98
11a	123,4	123,84
N-CH ₃	44,0	n.o.*
OCH ₂ O	100,2	101,91
OCH ₃ -9	56,1	56,33
OCH ₃ -10	55,9	56,21

* sinal não observado

Determinação estrutural de VIII



VIII

A identificação estrutural do alcalóide **VIII** foi feita com base na análise dos seus espectros de massa e de RMN ^1H e ^{13}C (PND, DEPT 135 e 90°, HETCOR e COSY). O espectro de RMN ^1H (**fig.49**, pág.106) é bastante semelhante ao obtido para a dicentrina (**II**), diferindo apenas na região alifática, sendo que a principal diferença está no sinal referente a metila ligada ao nitrogênio, que na dicentrina aparece em δ 2,57 e, neste em δ 3,39.

O espectro de RMN ^{13}C (PND) (**fig. 50**, pág.107) mostrou 20 sinais de carbonos, sendo 12 sp^2 e 8 sp^3 . Após análise do espectro de DEPT 135° e 90° (**fig. 51**, pág.108) constatou tratar-se de 9 carbonos quaternários, 4 carbonos metínicos, 4 carbonos metilênicos e 3 carbonos metílicos.

A comparação dos valores de deslocamento químico de carbono e hidrogênio de **VIII** com aqueles encontrados na literatura para a dicentrina (**Tabela 10**) mostrou que os anéis A e D são semelhantes, sendo que a diferença entre eles reside na porção alifática da molécula C-4, C-5, C-6a e C-

7. As atribuições dos valores de deslocamento dos carbonos foram feitas também pela observação das correlações com os hidrogênios observadas no HETCOR (**fig. 52**, pág. 109) e que são mostradas na **Tabela 11**.

Nenhum outro sinal foi observado no espectro de RMN ^1H ou ^{13}C , porém a diferença em torno de 12 ppm observada para os carbonos 5 e 6a que são α ao nitrogênio era uma forte indicação que este último alcalóide diferia dos anteriores, provavelmente, com relação as ligações do nitrogênio. Como o alcalóide não se encontra na forma de sal de amônio quaternário, pela absoluta ausência de qualquer outro sinal de carbono ou hidrogênio e também por suas características químicas, propusemos o N-óxido, que certamente provocaria uma desproteção significativa nos carbonos α ao nitrogênio, conforme observado nos espectros de RMN ^{13}C .

Os valores de deslocamento químico dos hidrogênios aromáticos da N-óxido dicentrina coincidiram com aqueles obtidos para **II** (**Tabela 10**), entretanto os valores referentes aos hidrogênios alifáticos não são citados na literatura e foram posicionados com base no espectro de HETCOR (tabela 10, pág 63).

O espectro de massas (**fig.53**, pág.110) apresentou um padrão de fragmentação coerente com a estrutura proposta. Como era esperado, o pico do íon molecular correspondente a fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_5\text{N}$ em m/z 355,14197 apresentou intensidade baixa < 2%. O pico base em m/z 338 foi atribuído ao fragmento gerado pela perda do oxigênio da função N-óxido juntamente com um hidrogênio. A perda do oxigênio radicalar deu origem ao fragmento de m/z 339 (67) e a perda do radical metila a partir deste fragmento gerou o pico em

m/z 324 (8). O fragmento com m/z 296 (45) é resultante do fragmento gerado pela abertura do anel B e a conseqüente perda de C₂H₅NO.

A N-óxido dicentrina é inédita como produto natural, tendo sido obtida apenas por síntese²⁵ através da oxidação da dicentrina com o ácido *m*-cloroperbenzóico. Entretanto, não há na literatura dados referentes aos valores de deslocamento químico dos carbonos, visto que ela foi identificada apenas pelos dados de RMN ¹H e pelo espectro de massas.

Sete famílias de plantas, a saber, Anonaceae, Berberidaceae, Magnoliaceae, Menispermaceae, Monimiaceae, Papaveraceae e Ranunculaceae são conhecidas por produzir alcalóides N-óxido-aporfinicos.²⁸ Esta é, portanto, a primeira vez que este tipo de alcalóide é isolado da família Lauraceae.

O interesse pelo uso clínico dos N-óxidos tem surgido em virtude de suas propriedades de liberação gradativa, de sua baixa toxicidade e baixa propriedades aditivas se comparado com os alcalóides terciários correspondentes.²⁸

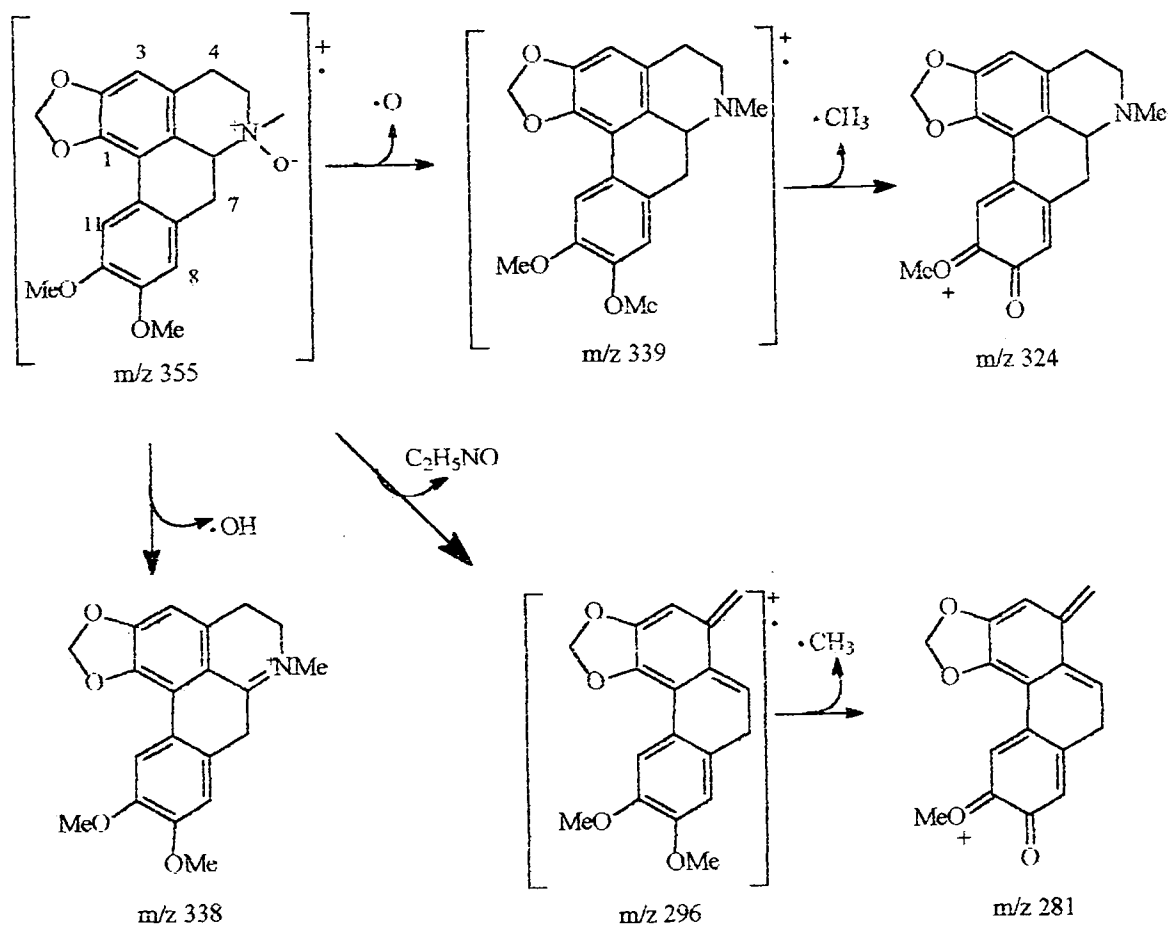


Figura 11- Proposta de fragmentação de massas para a N-óxido dicentrina

Tabela 10- Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C de **VIII** com aqueles encontrados na literatura para a dicentrina.

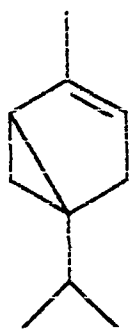
Carbono	δ Dicentrina (CDCl_3)	δ VIII (CDCl_3)	Δ
1	141,7	143,5	
1a	116,6	117,4	
1b	126,1	122,1*	4,0
2	146,6	148,7	
3	106,1	106,5	
3a	126,5	122,4*	3,9
4	29,2	28,5	
5	53,6	65,6*	12,0
6a	62,4	73,8*	11,4
7	34,3	27,1*	7,2
7a	128,3	124,4*	3,9
8	110,5	110,8	
9	148,2	149,4	
10	147,6	149,1	
11	111,2	111,8	
11a	123,4	120,1*	3,3
N- CH_3	44,0	47,6*	3,6
O CH_2 O	100,2	100,6	
O CH_3 -9	56,1	56,3	
O CH_3 -10	55,9	56,2	

Tabela 11- Correlações observadas no HETCOR para o alcalóide **VIII**.

Carbonos	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
C-4	27,1	3,07 (dd)
C-7	28,5	2,95 (t) 3,60 (dd)
C-5	65,6	4,40 (dd) 4,00 (indefinido)
C-6a	73,8	4,85 (dd)
C-8	111,8	6,83 (s)
C-11	110,8	7,63 (s)
C-3	106,5	6,56 (s)
OMe-9	56,3	3,91*
OMe-10	56,2	3,90*
N-Me	47,6	3,39 (s)

4.2 - Composição química dos óleos essenciais de folhas e galhos de *Ocotea puberula* (Lauraceae)

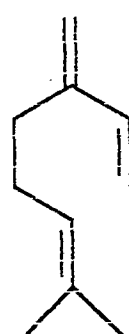
A identificação dos constituintes químicos do óleo essencial das folhas e galhos de *Ocotea puberula*, feita através do método de comparação do índice de retenção obtidos pela equação de Van den Dool e Kratz²³ com os índices de retenção da literatura²⁴ e seus espectros de massas, levou a identificação de três monoterpenos (α -tujeno (**X**), β -pineno (**XI**) e mirceno (**XII**)) e mais dez sesquiterpenos (isoledeno (**XIII**), β -elemeno (**XIV**), β -cariofileno (**XV**), α -humuleno (**XVI**), γ -curcumeno (**XVII**), germacreno-D (**XVIII**), biciclogermacreno (**XIX**), Δ -cadineno (**XX**), longifoleno (**XXI**), germacreno-A (**XXII**)). O índice de retenção e a abundância relativa de cada um dos compostos identificados são mostrados nas **tabelas 11** (pág.66) e **12** (pág.67)



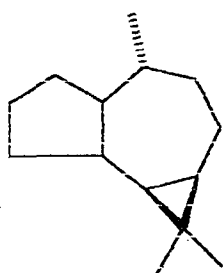
X



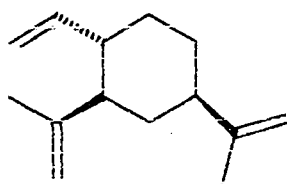
XI



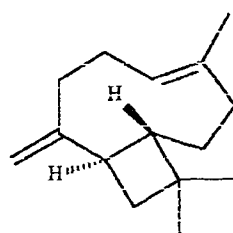
XII



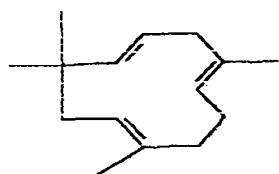
XIII



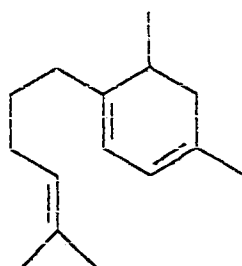
XIV



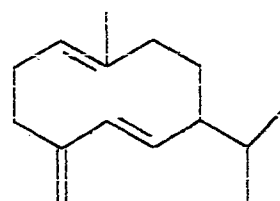
XV



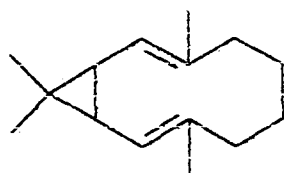
XVI



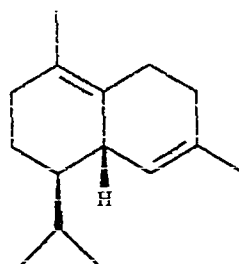
XVII



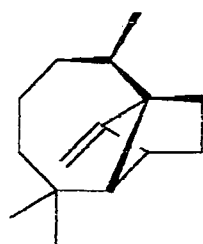
XVIII



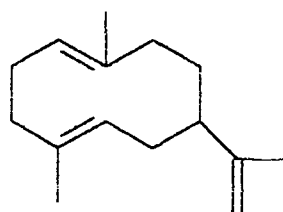
XIX



XX



XXI



XXII

Figura 12- Estrutura dos mono e sesquiterpenos identificados nas folhas e galhos de *Ocotea puberula*.

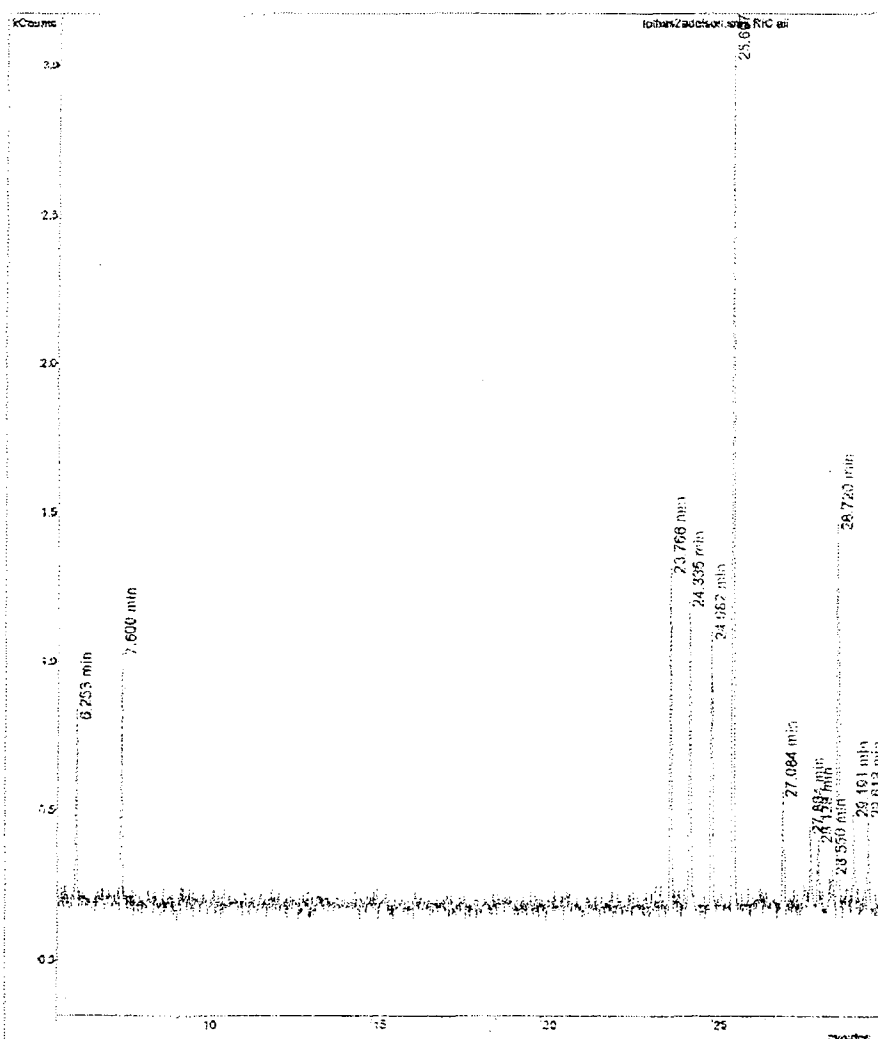


Figura 13- Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Ocotea puberula*.

Tabela 12: Principais constituintes químicos do óleo essencial das folhas de *Ocotea puberula*

COMPOSTO	IR	IR (lit.)	(%)
α - TUJENO	909	931	4,1
β - PINENO	974	980	6,5
NÃO IDENTIFICADO	1378		
β - ELEMENO	1391	1391	9,7
LONGIFOLENO	1407	1402	8,7
E - CARIOFILENO	1423	1418	31,0
α - HUMULENO	1460	1454	3,7
γ - CURCUMENO	1480	1480	2,0
GERMACRENO D	1486	1480	2,1
NÃO IDENTIFICADO	1496		
BICICLOGERMACRENO	1501	1494	14,0
GERMACRENO A	1512	1503	3,4
Δ - CADINENO	1523	1524	2,8

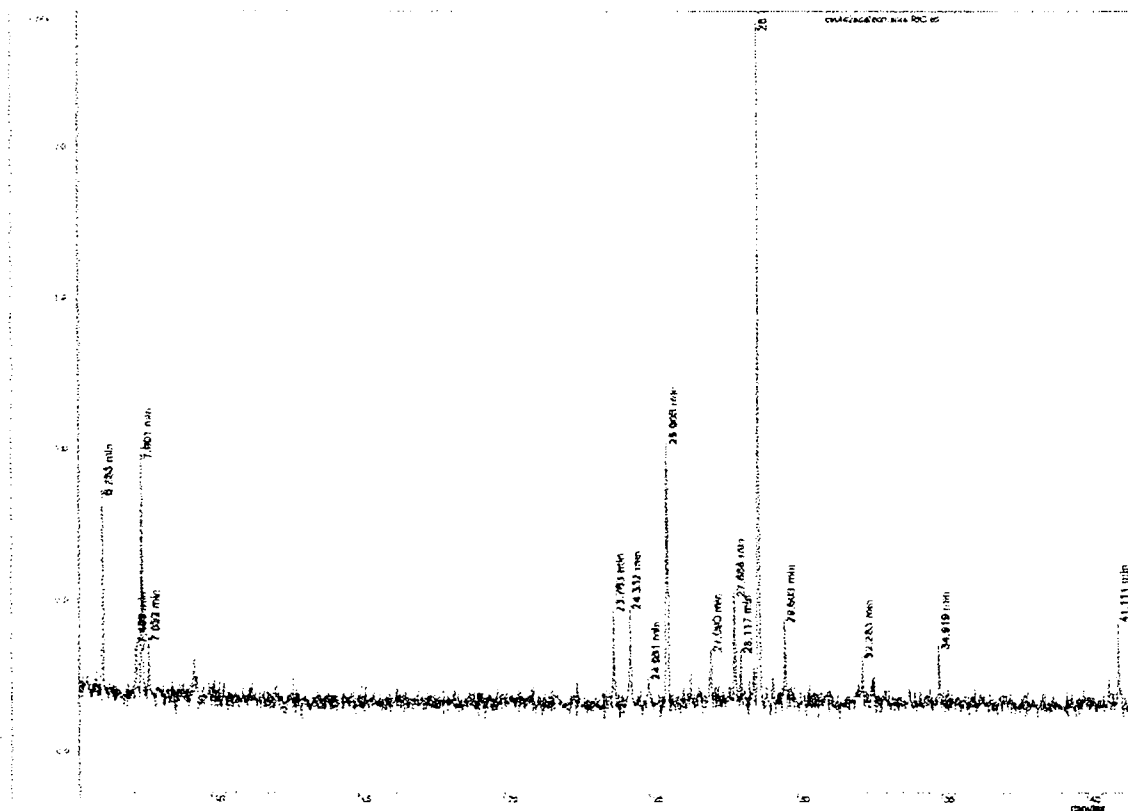


Figura 14- Cromatograma do óleo essencial dos galhos de *Ocotea puberula*

Tabela 13: Principais constituintes químicos do óleo essencial dos galhos de *Ocotea puberula*

COMPOSTO	IR	IR (lit.)	(%)
α - TUJENO	909	931	5,0
NÃO IDENTIFICADO	964		
β - PINENO	974	980	7,9
MIRCENO	986	991	2,8
ISOLEDENO	1378	1373	4,6
β - ELEMENO	1391	1391	5,3
β - CARIOFILENO	1423	1418	14,0
α - HUMULENO	1460	1454	3,0
γ - CURCUMENO	1480	1480	5,0
GERMACRENO D	1485	1480	2,1
BICICLOGERMACRENO	1501	1494	31,0
Δ - CADINENO	1522	1524	2,2

Uma análise comparativa mostrou que os óleos de folhas e galhos (**fig.13** e **14**) possuíam uma composição química semelhante, tendo como principais constituintes, os sesquiterpenos: cariofileno e biciclogermacreno, que perfazem juntos quase 50% do óleo essencial analisado.

A diferença básica está na proporção encontrada entre eles. Nos galhos, o cariofileno representa 14% enquanto que nas folhas ele foi encontrado na proporção de 31%. O inverso ocorre com o biciclogermacreno, encontrado na proporção de 31% nos galhos e de 14% nas folhas.

5-CONCLUSÃO

Do fracionamento da fração alcaloídica do extrato etanólico de folhas de *Ocotea puberula* foram isolados 8 alcalóides aporfinicos: Ocoteina (I), Dicentrina (II), Predicentrina (III), N-metil-laurotetanina (IV), Isodomesticina (V), Leucoxina (VI), 3-hidroxicentrina (VII) e a N-óxido dicentrina (VIII). Destes somente I tinha sido relatada na espécie e os alcalóides VII e VIII são inéditos na literatura.

Com relação a composição química do óleo essencial de folhas e galhos de *Ocotea puberula* foram identificados três monoterpenos: tujeno, mirceno e β -pineno e dez sesquiterpenos: β -elemeno, isolepido, longiofileno, α -humuleno, γ -curcumeno, germacreno-D, β -cariofileno, biciclogermacreno, germacreno A e Δ -cadineno. A análise comparativa de galhos e folhas da espécie *Ocotea puberula* (Lauraceae) mostram uma certa variabilidade química nos seus constituintes com relação a proporção de seus principais componentes nos diferentes órgãos analisados.

6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-LORENZI, H. **Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. [S.I.], EPU, 1992. p. 129.
- 2- VIANA, A. M.; MOURA-COSTA, T. H.; MANTELL, S. H. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. [S.I.:s.n.], 1993 v. 35, p.279
- 3- LORDELLO, A. L. L. **Lignóides de folhas e de cultura de tecidos de *Ocotea catharinensis* Mez (Lauraceae)**. São Paulo, 1996. 155 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo.
- 4- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. (1975) Aporphine alkaloids. **Lloydia**, v. 38, n. 4, p. 275- 337, july./aug. 1975. Revisão.
- 5- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Aporphine alkaloids II. **J. Nat. Prod.**, v. 42, n. 4, p. 325- 359, july./aug. 1979. Revisão.
- 6- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Aporphine alkaloids III. **J. Nat. Prod.**, v. 46, n. 6, p. 761-835, nov./dec. 1983. Revisão.
- 7- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids, IV. **J. Nat. Prod.**, v. 51, n. 3, p. 389-474, may/jun. 1988. Revisão.
- 8- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Aporphine alkaloids V. **J. Nat. Prod.**, v. 57, n. 8, p. 1033 - 1133 , aug. 1994. Revisão.
- 9- GILBERT, B. et. al. The aporphine and isoquinoline alkaloids of *Ocotea glaziovii*, **J. Amer. Chem. Soc.** v. 86, p. 694-696, 1964.
- 10- CAVA, M. P.; BEHFORUZ, M.; MITCHELL, M. J. *Ocotea* alkaloids: variabiline: a novel aminoaporphine, **Tetrahedron Lett.**, v. 46, p. 4647 -&, 1972.

- 11- GARCEZ, W. S. **Constituintes químicos de *Ocotea vellosiana* (Meissn.) Mez. (Lauraceae).** São Paulo, 1991. 110 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) Instituto de Química, Universidade de São Paulo.
- 12- VILEGAS, J. H. Y. et.al. The chemistry of brazilian lauraceae. 93. Aporphine alkaloids from *Ocotea Caesia*. **Phytochemistry**, v.28, n. 12, p. 3577-3578. 1989.
- 13- CASTRO, O. C.; HASBUN, C.; CALDERON, M. **Fitoterapia**, v. 62, p. 72-73, 1991.
- 14- ZHOU, B. et. al. Isolation and biochemical characterization of a new topoisomerase I inhibitor from *Ocotea leucoxylon*, **J. Nat. Prod.** v. 63, n. 2, p. 217-221, 2000.
- 15- LOPEZ, J. A. et. al. Aporphine alkaloids of *Ocotea brenesii*. **Int. j. pharmacogn.** v. 34, n. 2, p. 145-147, 1996.
- 16- BARALLE, F. et. al. Thallicminine from *Ocotea puberula*. **Phytochemistry**, v. 12, n. 4, p. 948-949, 1973.
- 17- BARALLE, F. et. al. Dehydroocoteine and didehydroocoteine from *Ocotea puberula*. **J. Experientia.** v. 28, n. 8, p. 875-&, 1972.
- 18- DOSTÁL, J. Two Faces of Alkaloids , **J. Chem. Educ.** v. 77, n. 8, p. 993-998, 2000.
- 19- KELLY, J. W. **Comprehensive Natural Products Chemistry** Recent Advances in Biosynthesis of alkaloids.. v. 4, p. 25- Elsevier, 4, 25.
- 20- BENTLEY, K. W. **Chemistry and Biochemistry of Organic Natural Products.** Harwood Academic Publishers, 1998. v. 1: The Isoquinoline alkaloids. Cap. 8.

- 21- HUANG, R. et.al. Anti-Tumor Effects of d-Dicentrine from the Root of *Lindera megaphylla*, **Planta Med.** New York. v. 64, n. 3, p.212-215, 1998.
- 22- UGAZ, O. L. **Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales.** 2 ed. Potificia universidad del Peru, 1994, p. 264.
- 23- Farmacopéia Alemã DAB 10, vol. 1, V.4.5.8- Grundlfg, 1991.
- 24- DOOL, V. D.; KRATZ, P.D.J. A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programed Gas-Liquid Partition Chromatography, **J. Chromatography.**, v.11, p. 463-471, 1963.
- 25- ADAMS, R. P. **Identification of Essencial oils Compouds by Gas chromatography and Massa Spectroscopy**, Allured Publishing Corporation, Carol Stream. 1995.
- 26- LU, S. T.; WU, Y. C.; LEOU, S. P., **J. Chin. Chem. Soc.** v. 34, p.33, 1987.
- 27- SHAMMA, M. **The isoquinoline alkaloids: Chemistry and Pharmacology**, Academic Press, New York. 1972
- 28- SHAFIEE, A.; SEMNANI, K. M.; AMINI, M. (+) -Bulbocapnine- β -N-oxide from *Glaucium fimbriigerum*. **j. nat. Prod.** v. 61, 1564, 1998.
- 29- CRABB, T. A. **Annu. Rep. NMR Spectrosc.** v. 51, n. 3, p.389, 1975.

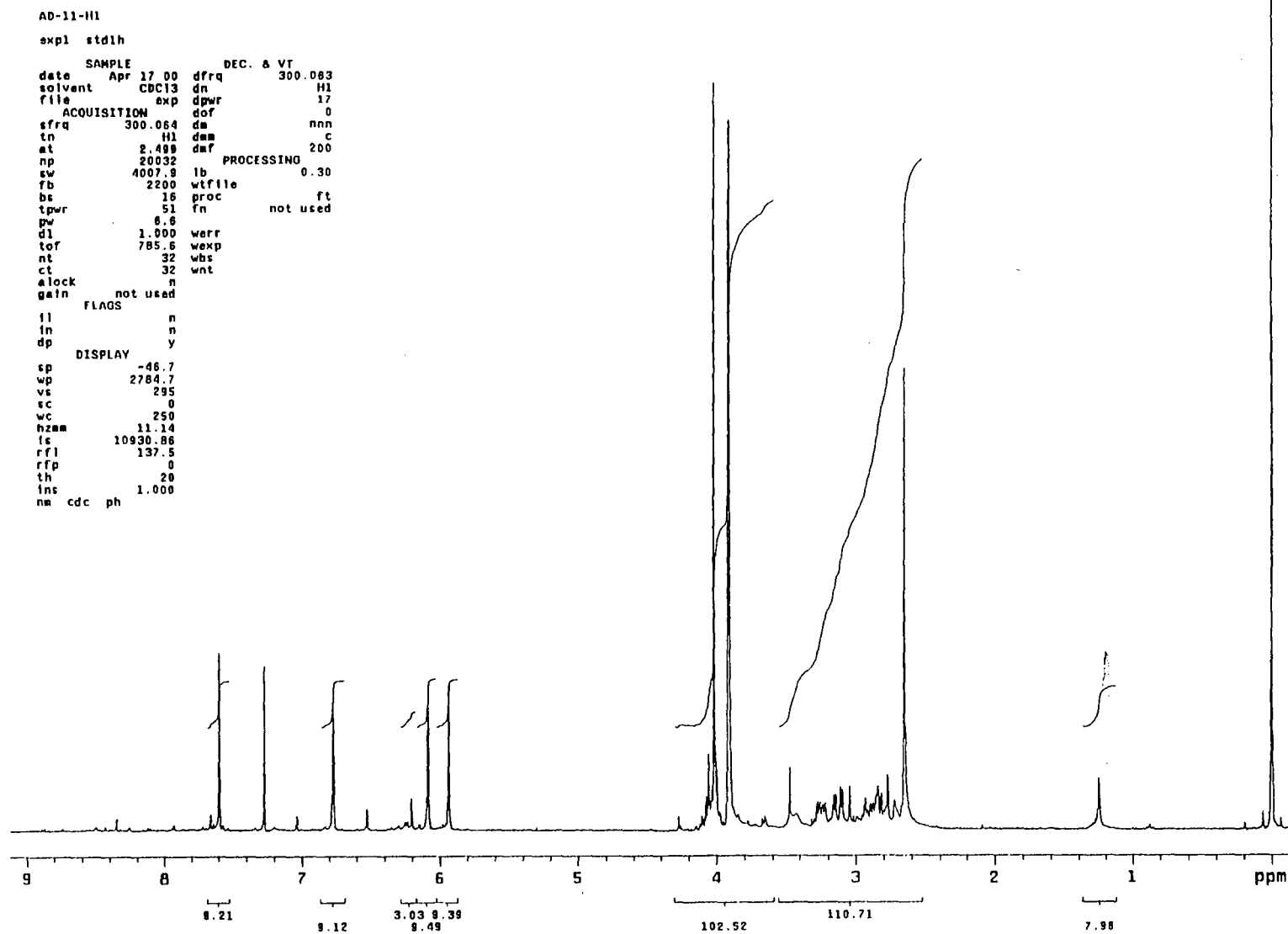


Figura 15- espectro RMN ^1H de I (CDCl_3 , 300 MHz)

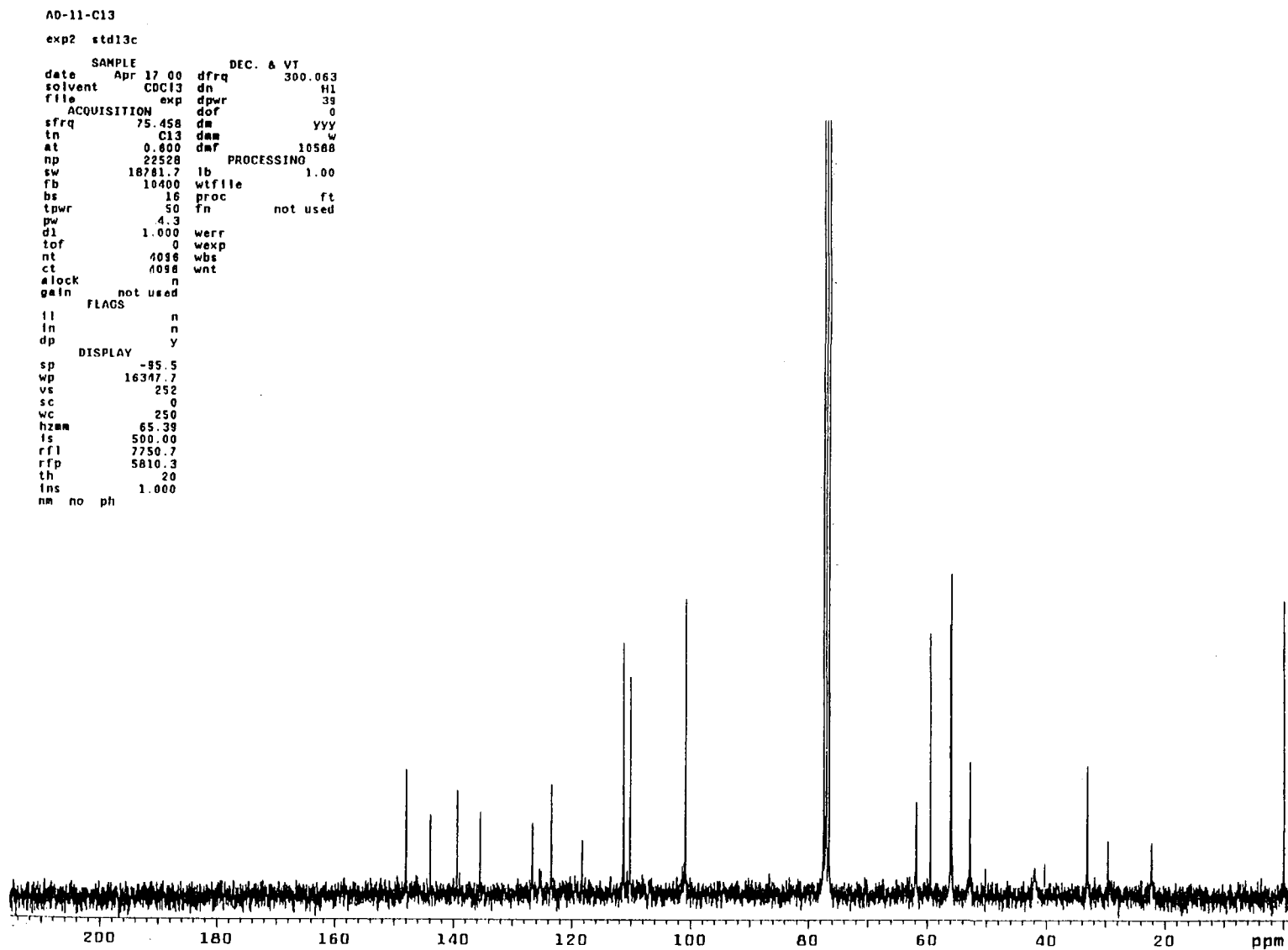


Figura 16- espectro RMN ^{13}C PND de I (CDCl_3 , 75 MHz)

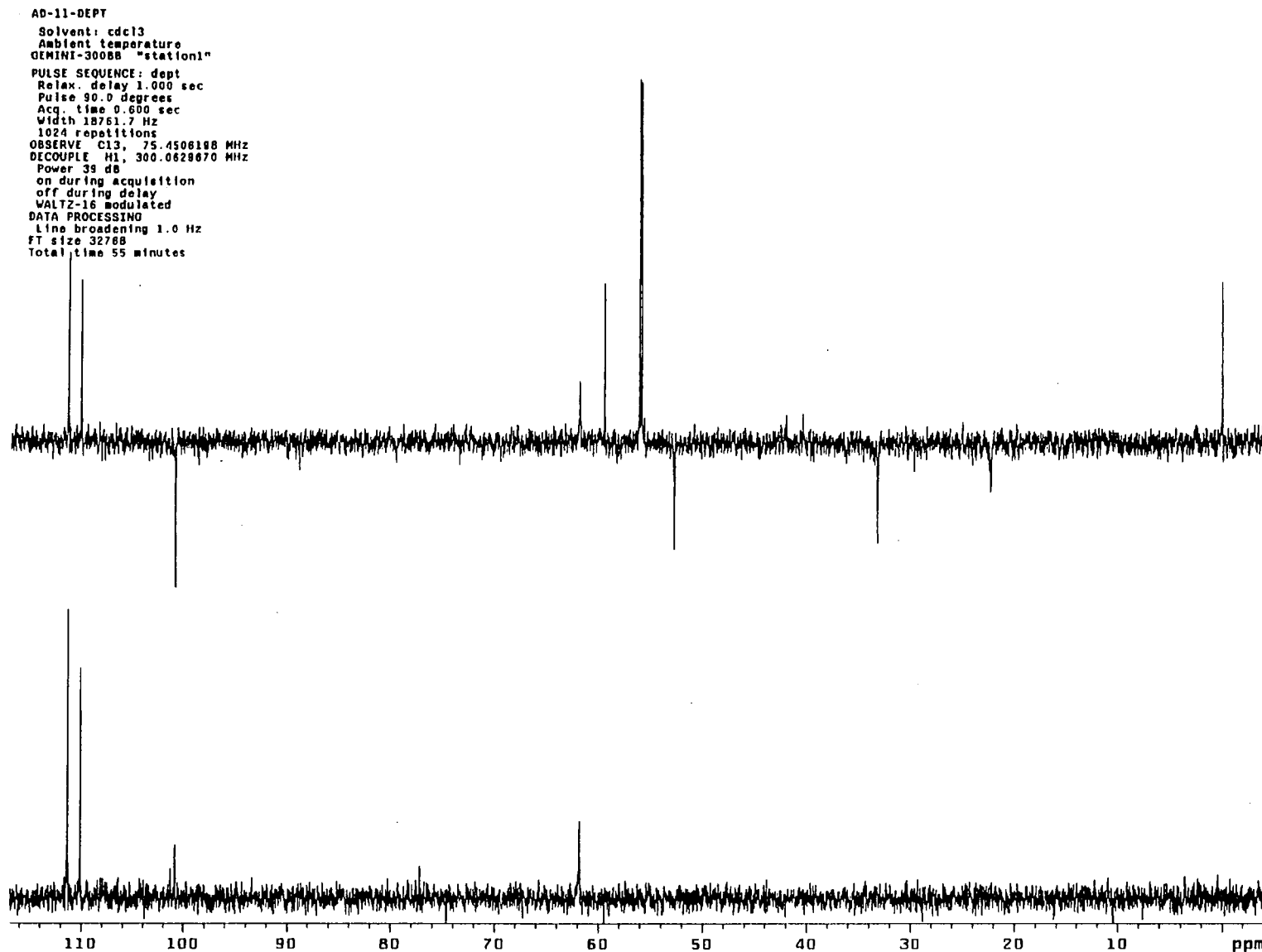


Figura 17- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de I (CDCl_3 , 75 MHz)

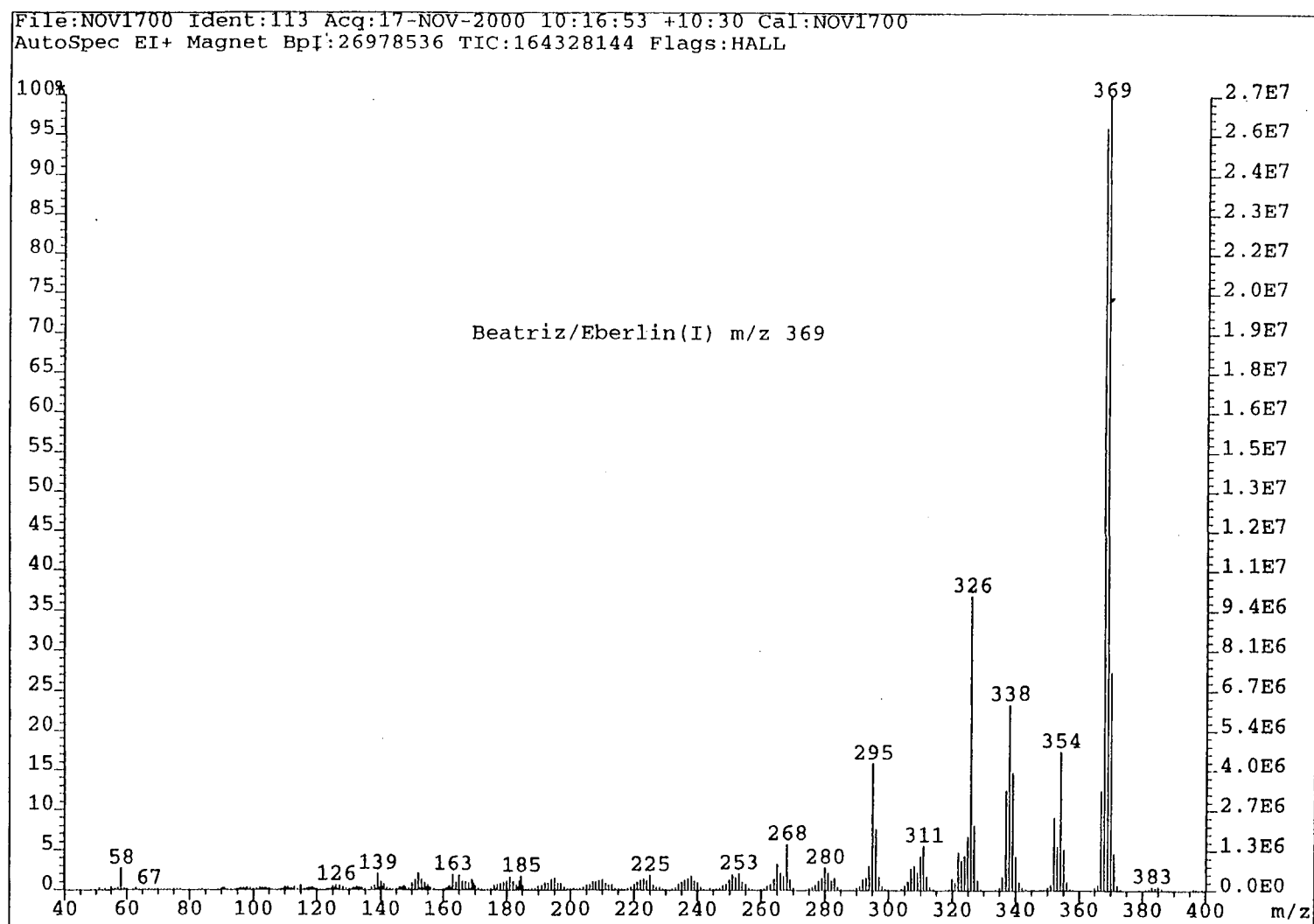


Figura 18- espectro de massas de I

AD-17-H1
 Solvent: CDCl₃
 Ambient temperature
 GEMINI-300MR "station1"
 PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 2.456 sec
 Width 3910.0 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0618874 MHz
 DATA PROCESSING
 Line broadening 0.3 Hz
 FT size 32768
 Total time 1 minute

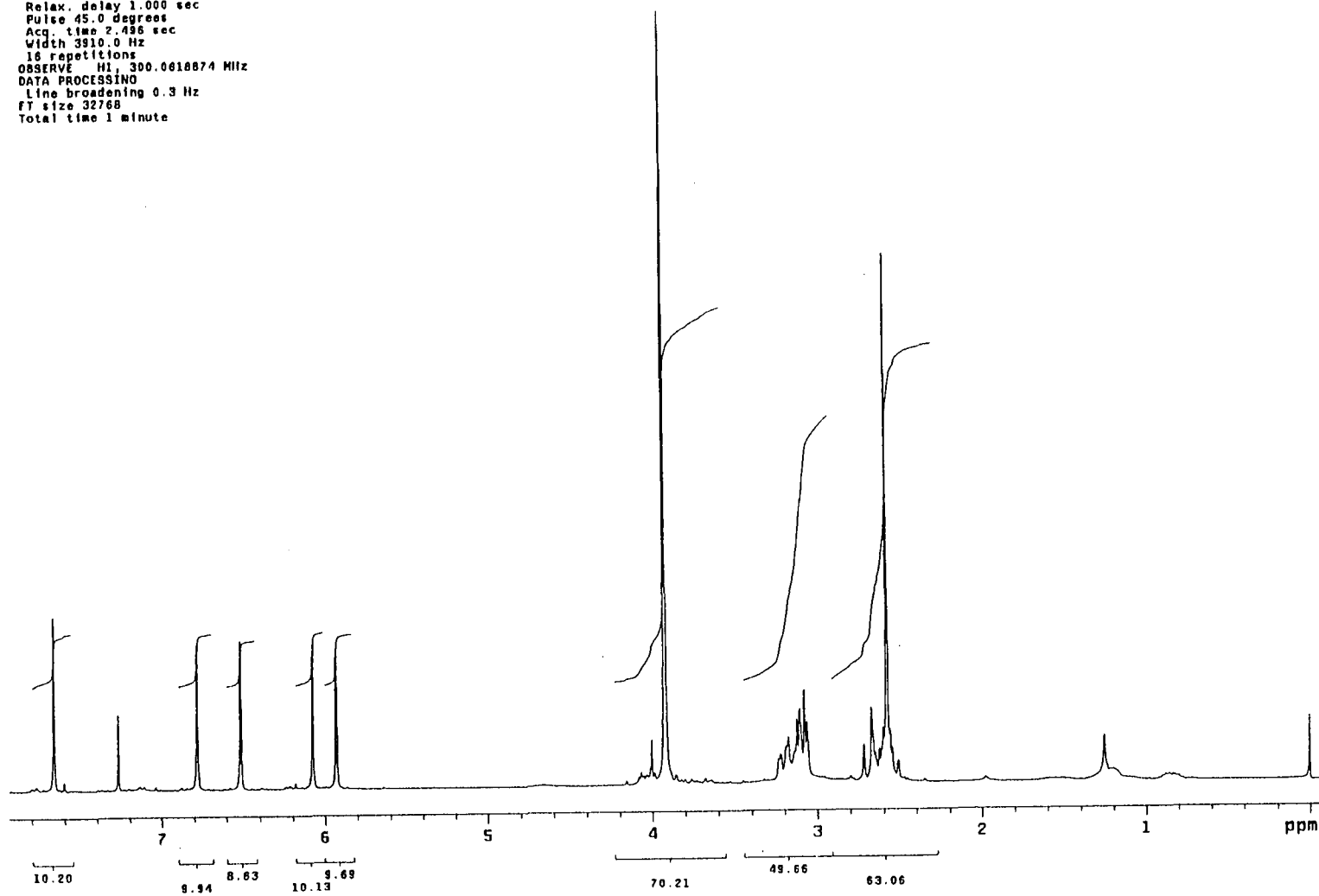


Figura 19- espectro RMN ¹H de II (CDCl₃, 300 MHz)

A0-17-C13
Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
GEMINI-300BB "station1"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 30.0 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 18761.7 Hz
2048 repetitions
OBSERVE C13, 75.4506210 MHz
DECOUPLE H1, 300.0629670 MHz
Power 39 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 54 minutes

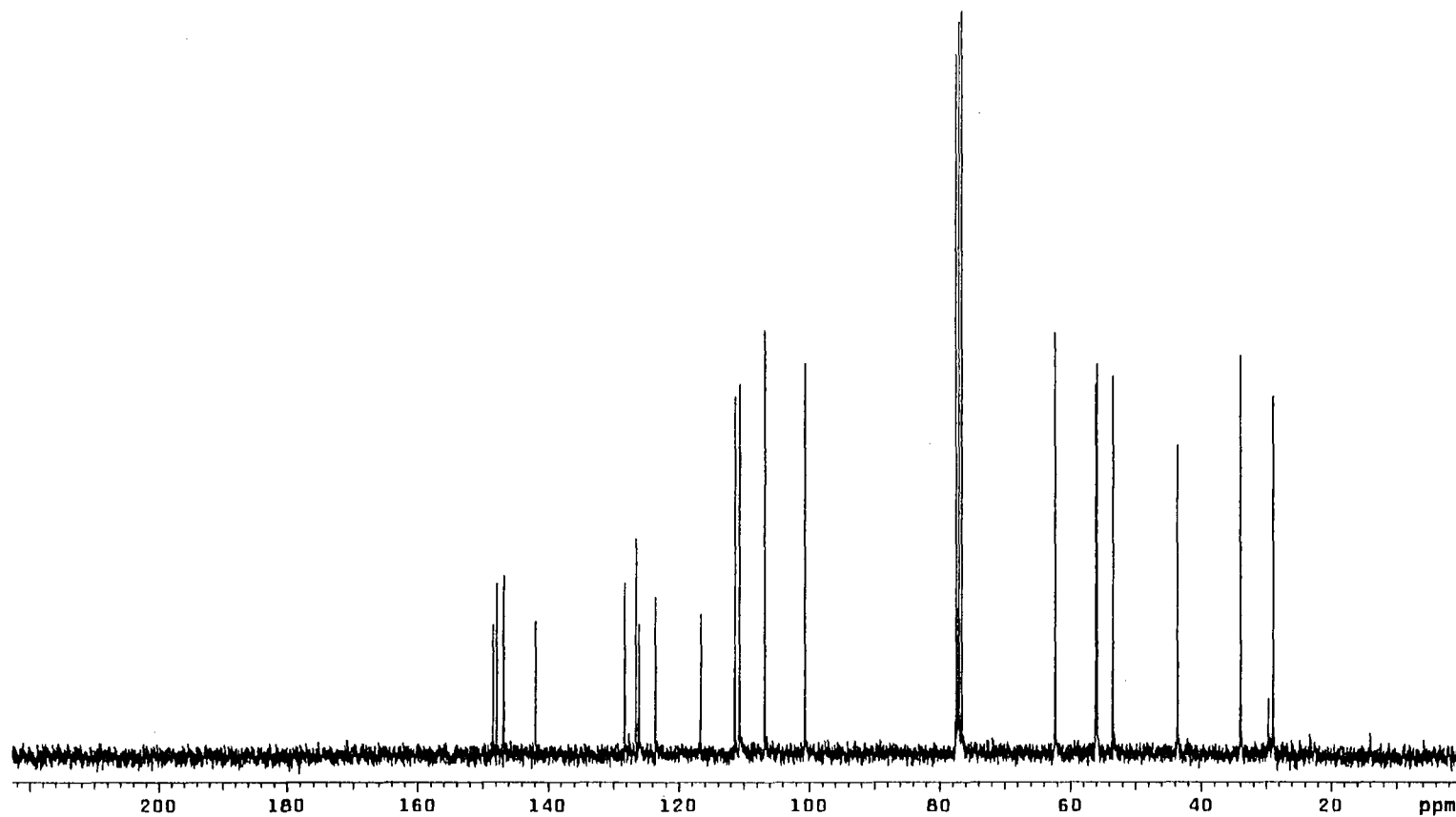


Figura 20- espectro RMN ¹³C PND de II (CDCl₃, 75 MHz)

AD-17-dept
Solvent: cdcl3
Ambient temperature
GEMINI-30088 "station1"
PULSE SEQUENCE: dept
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 18761.7 Hz
512 repetitions
OBSERVE C13, 75.4506210 MHz
DECOUPLE H1, 300.0829670 MHz
Power 38 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 27 minutes

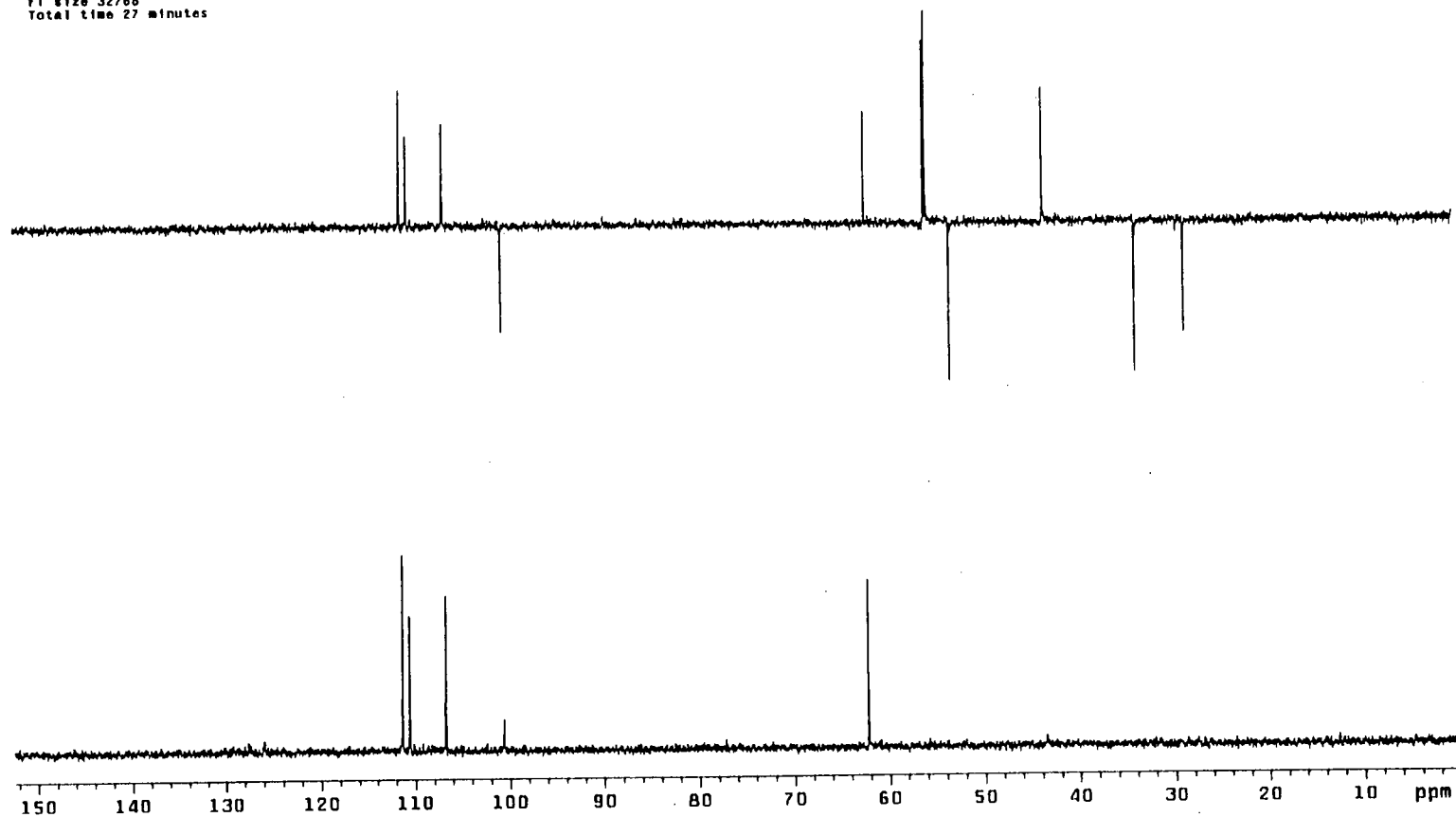


Figura 21- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de II (CDCl₃, 75 MHz)

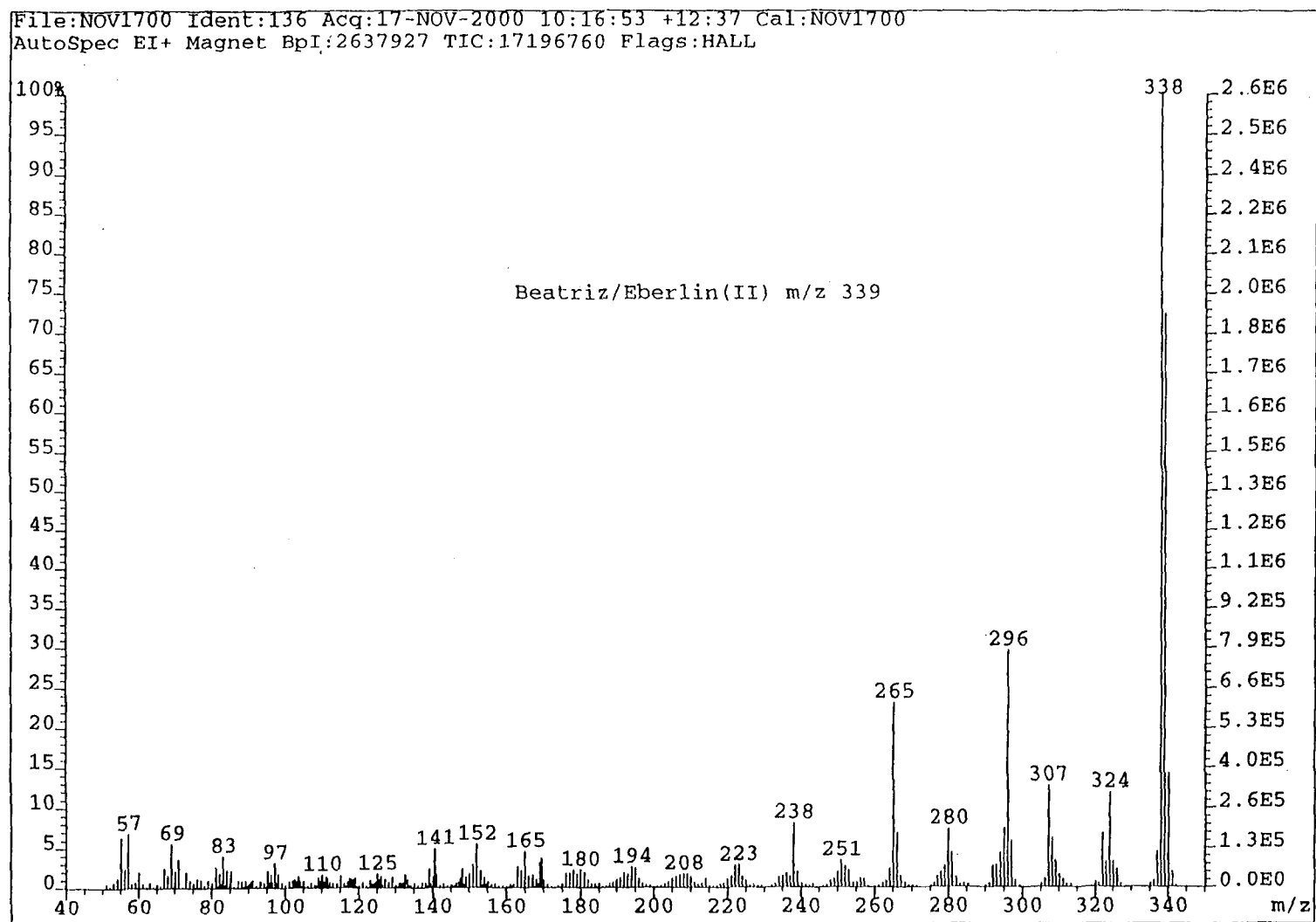


Figura 22- espectro de massas de II.

AD-23-H1r
Solvent: CD3OD
Ambient temperature
GEMINI-30000 "station1"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.485 sec
Width 2591.2 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 300.0630592 MHz
DATA PROCESSING
Line broadening 0.3 Hz
FT size 16384
Total time 1 minute

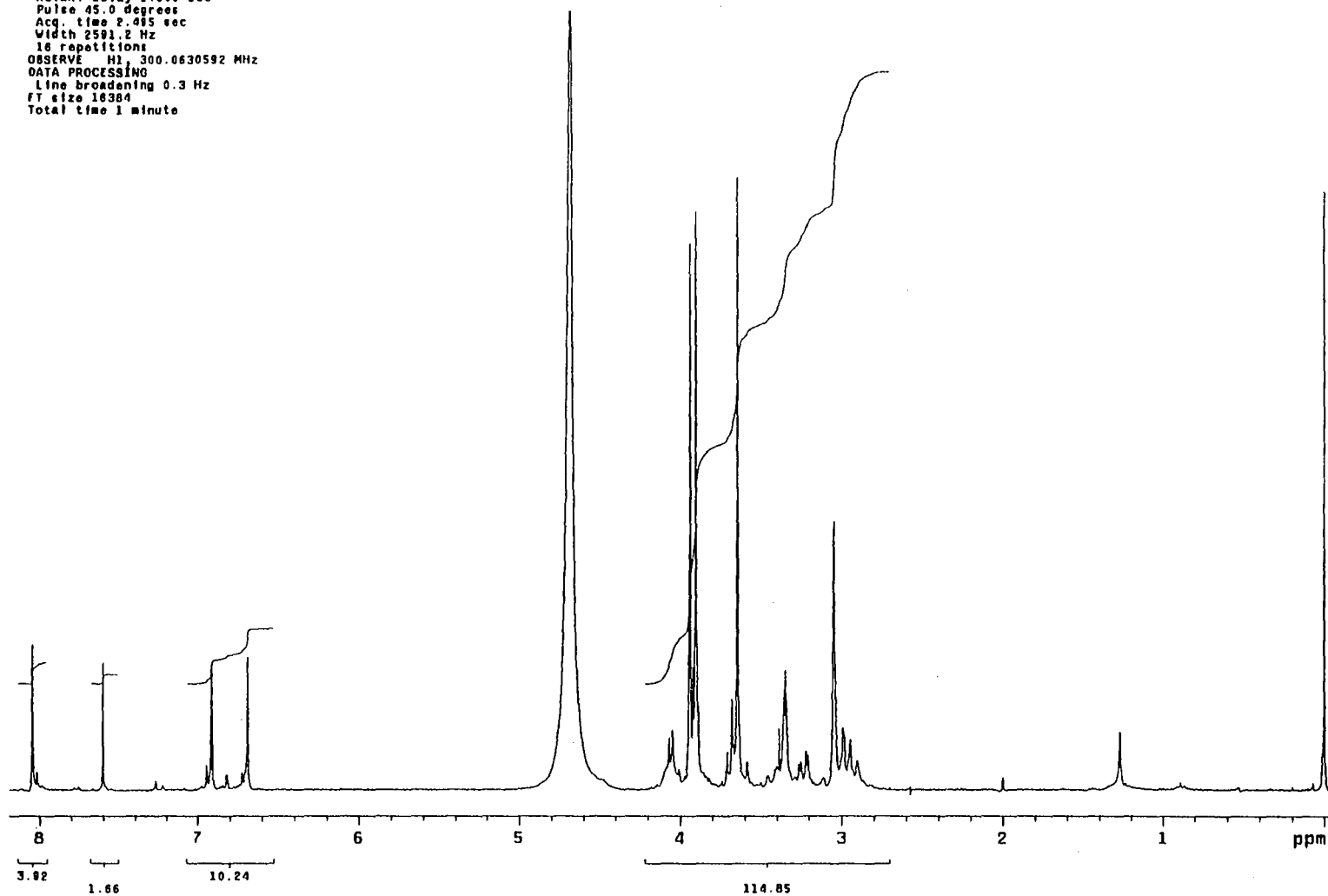


Figura 23- espectro RMN ¹H de III (CDCl₃/CD₃OD, 300 MHz)

AD-23-C13r
Solvent: CD3OD
Ambient temperature
GEMINI-300BS "station1"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 30.0 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 18781.7 Hz
18000 repetitions
OBSERVE C13, 75.4508572 MHz
DECOUPLE H1, 300.0641493 MHz
Power 35 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 8.0 hours

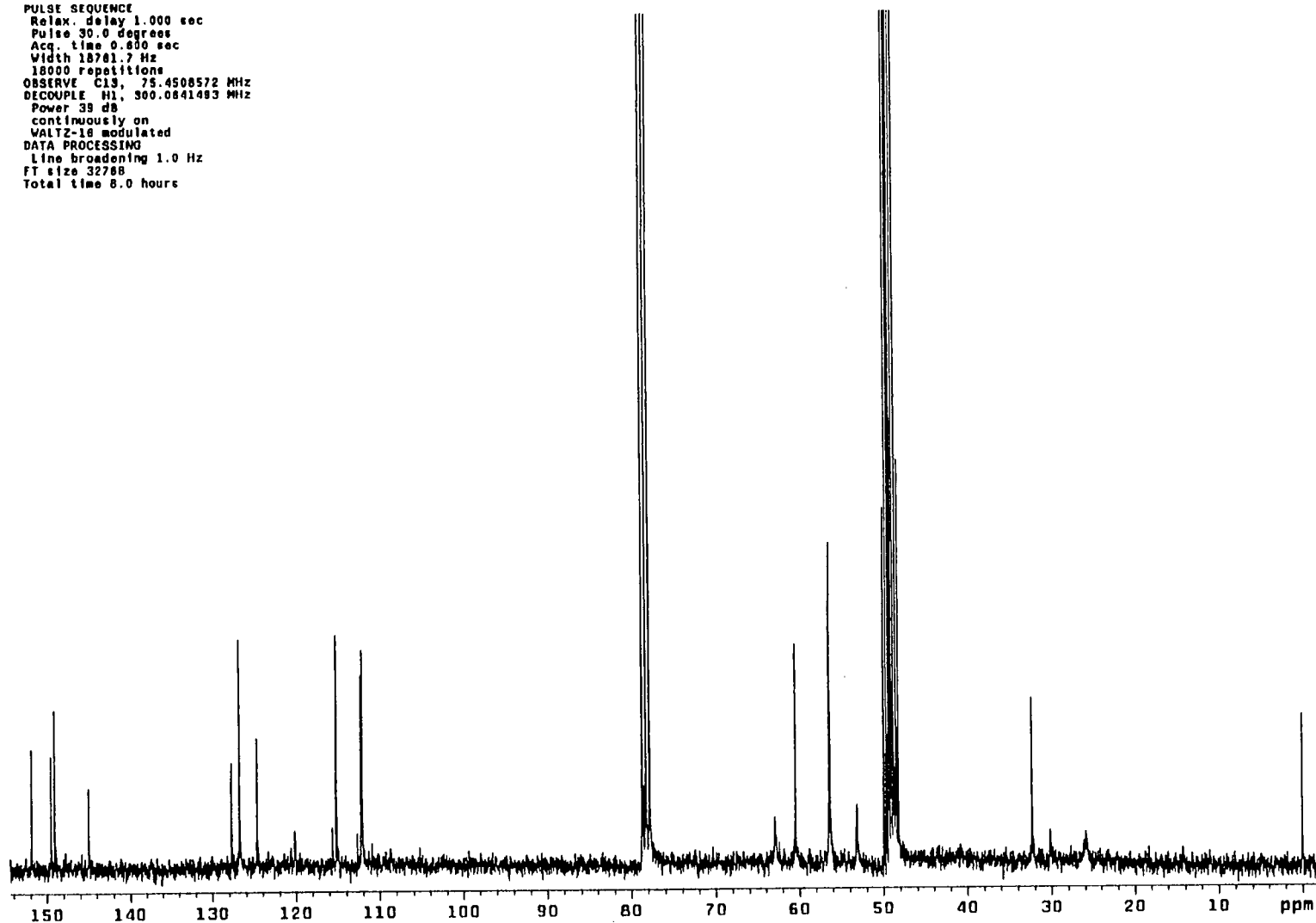


Figura 24- espectro RMN ^{13}C PND de III ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, 75 MHz)

AD-23-DEPT
Solvent: CD3OD
Ambient temperature
GEMINI-300BB "station1"
PULSE SEQUENCE: dept
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 80.0 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 18761.7 Hz
4504 repetitions
OBSERVE C13, 75.4508572 MHz
DECOUPLE H1, 300.0641493 MHz
Power 38 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 4.0 hours

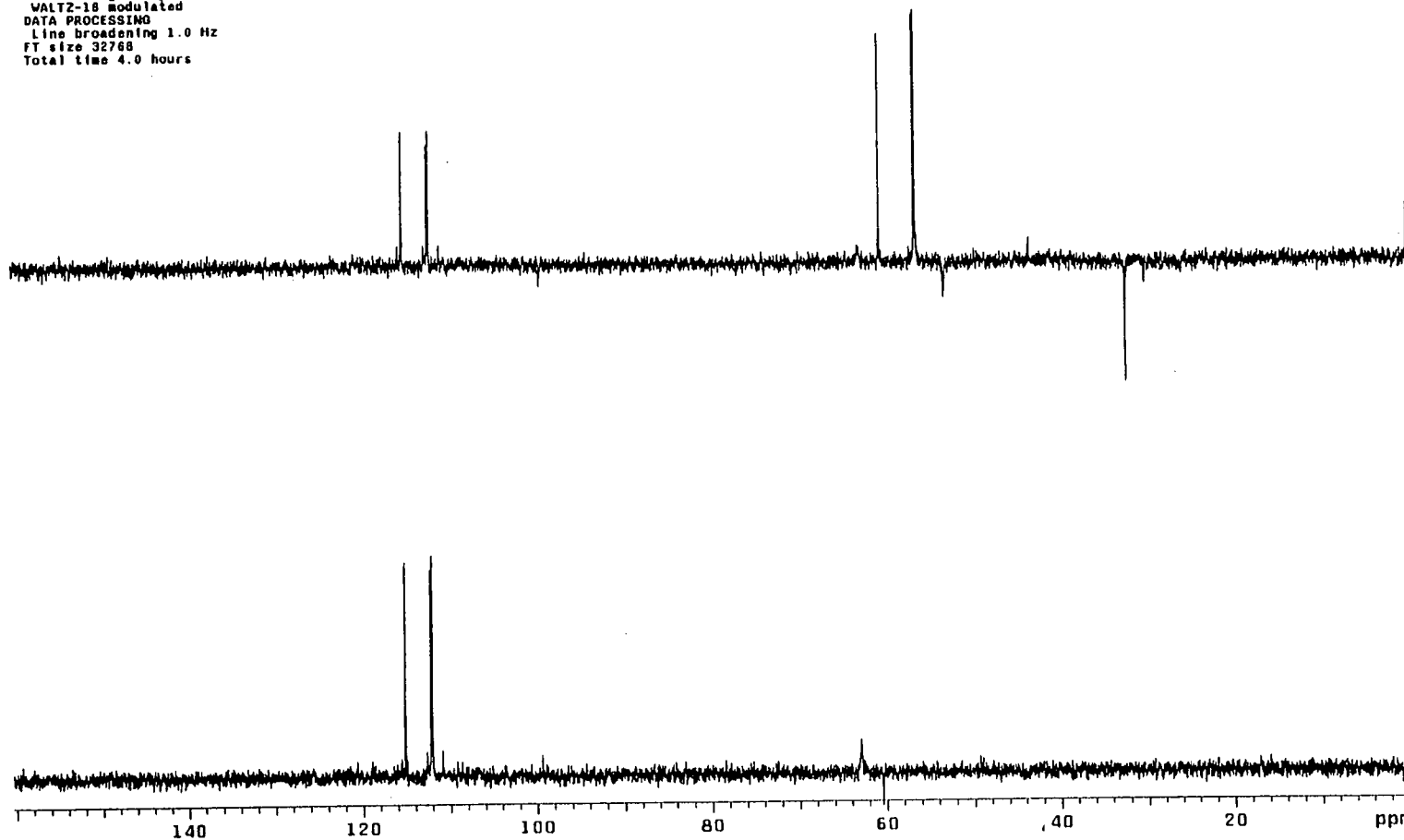


Figura 25- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de III ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 75 MHz)

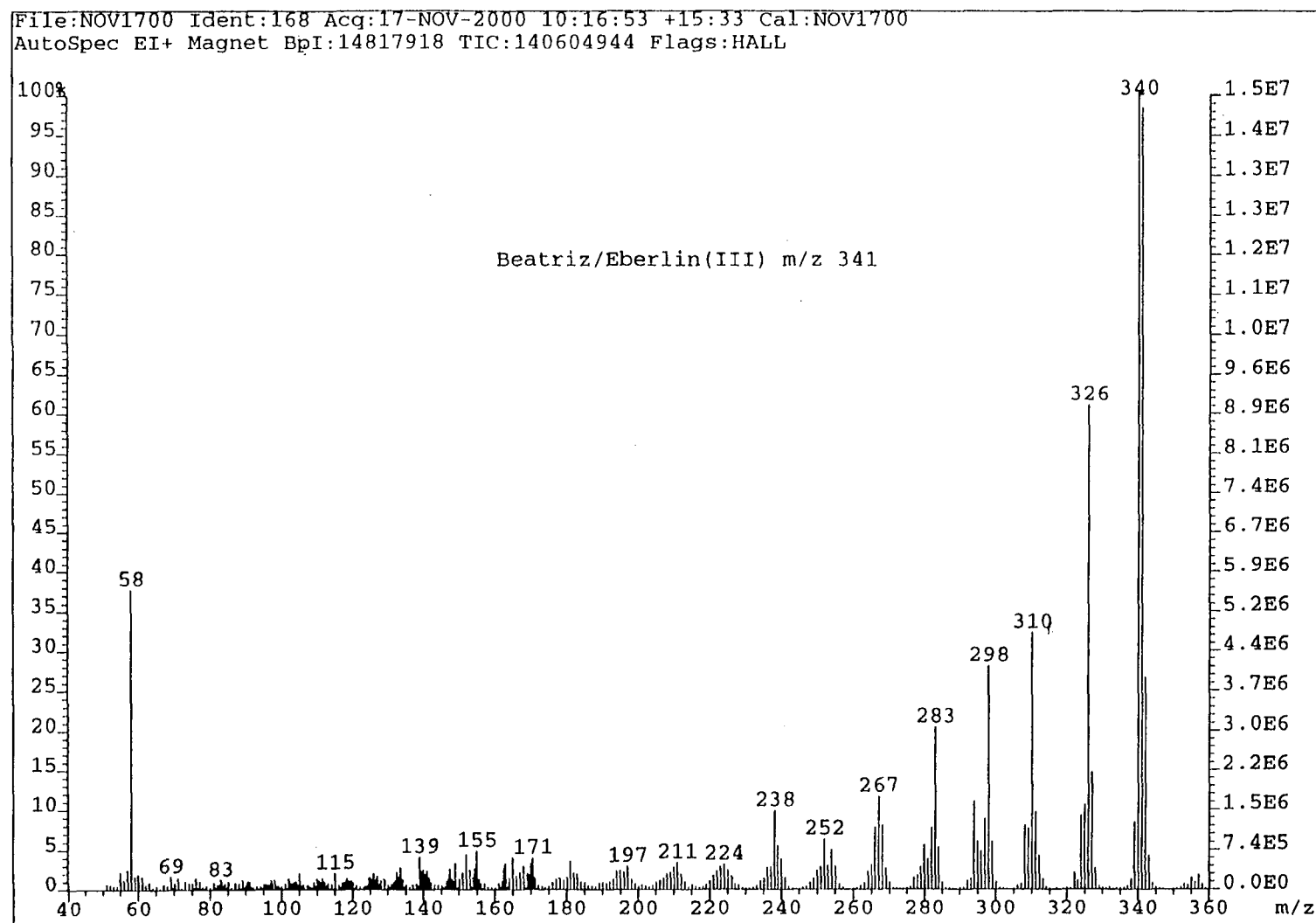


Figura 26 - espectro de massas de III.

AD-19b-H1
 Solvent: CDCl₃
 Ambient temperature
 GEMINI-300B5 "station1"
 PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 2.501 sec
 Width 3620.4 Hz
 32 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0618876 MHz
 DATA PROCESSING
 Line broadening 0.3 Hz
 FT size 32768
 Total time 1 minutes

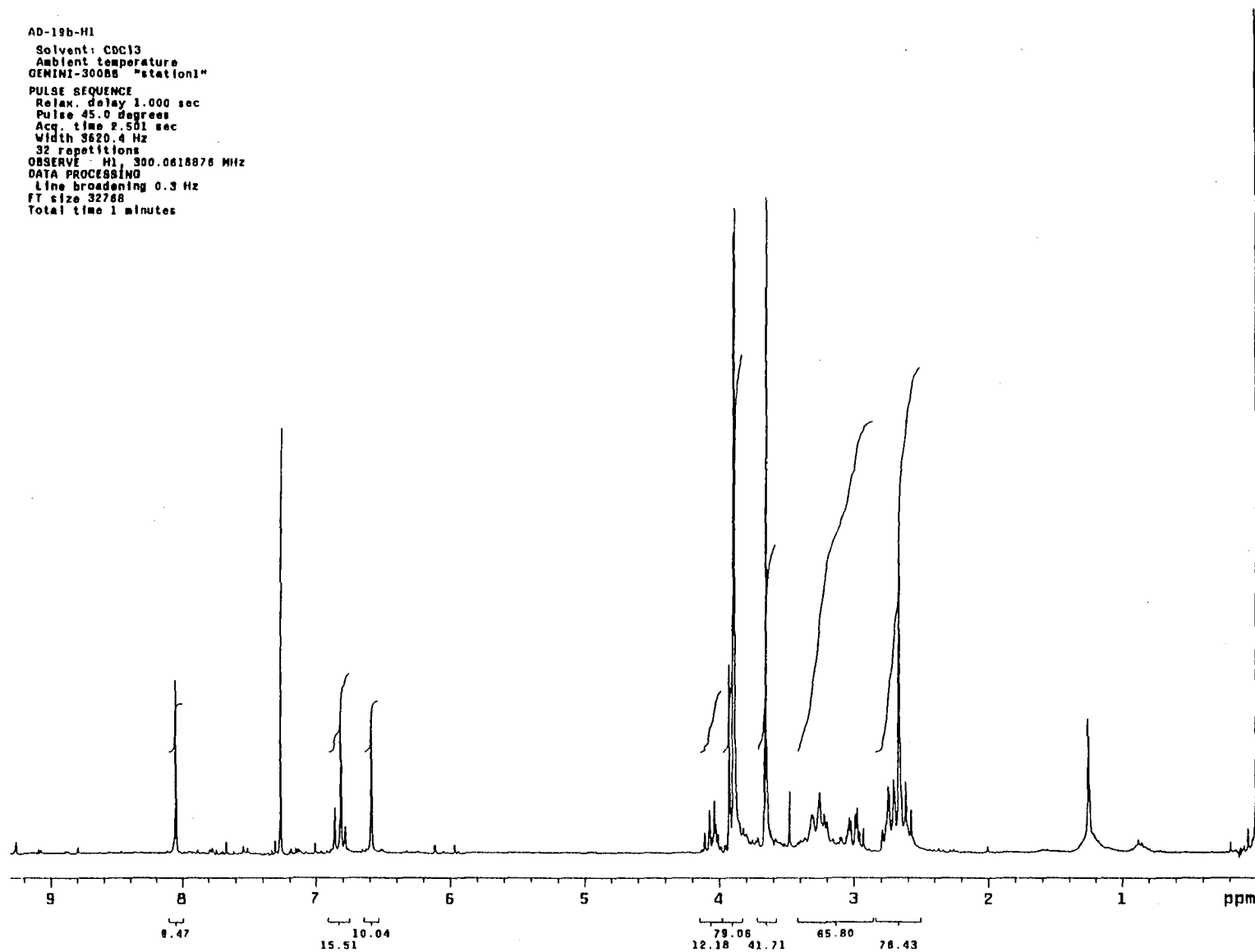


Figura 27- espectro RMN ¹H de IV (CDCl₃, 300 MHz)

AD-19b-C13
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
GEMINI-300BB "station1"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 30.0 degrees
Acq. time 0.500 sec
Width 18781.7 Hz
4096 repetitions
OBSERVE C13, 75.4506057 MHz
DECOUPLE H1, 300.0829670 MHz
Power 39 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 109 minutes

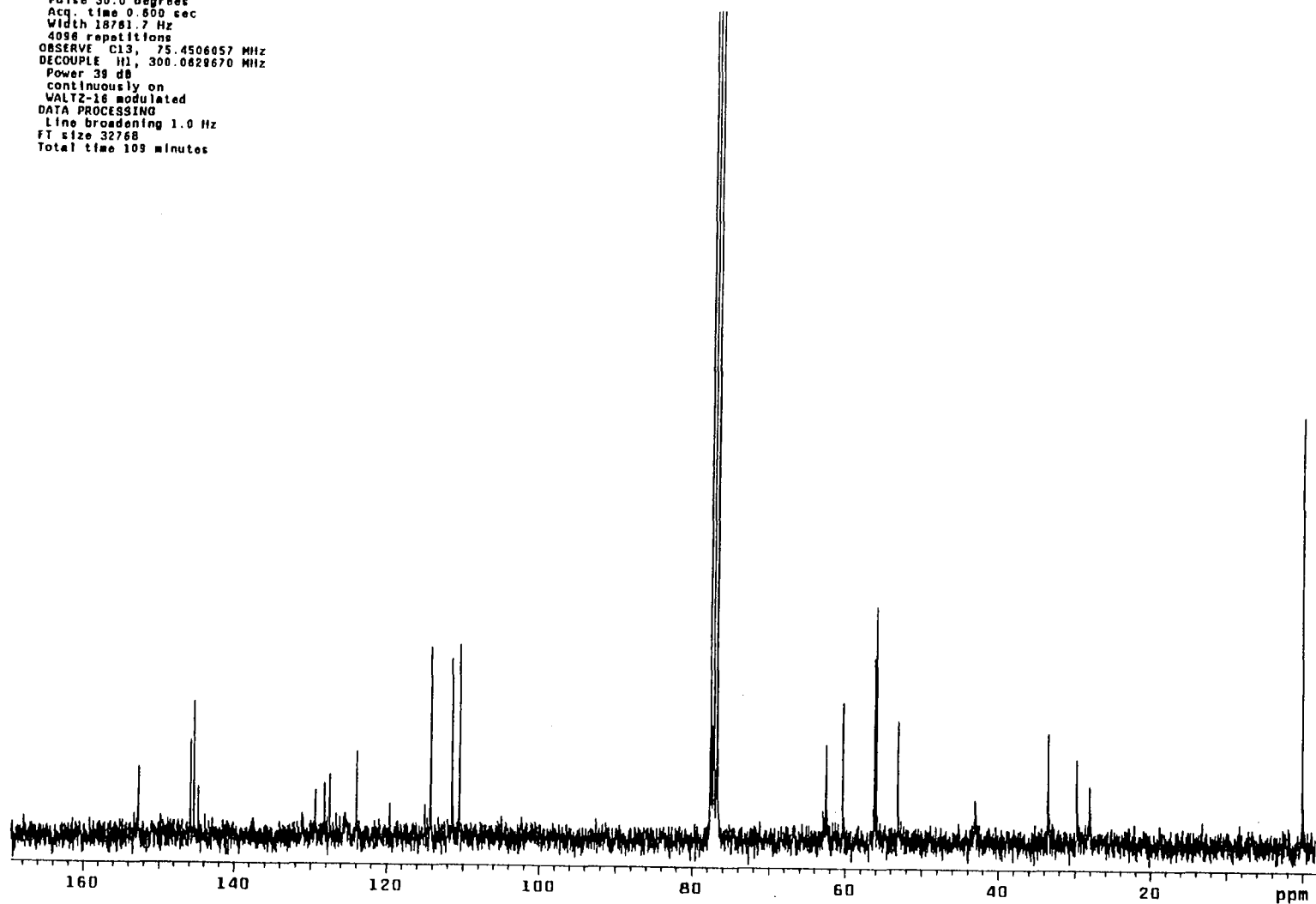


Figura 28- espectro RMN ^{13}C PND de IV (CDCl_3 , 75 MHz)

AD-19b-DEPT
Solvent: cdcl3
Ambient temperature
GEMINI-300BB "station1"
PULSE SEQUENCE: dept
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 0.600 sec
Width 18761.7 Hz
4096 repetitions
OBSERVE C13, 75.4508057 MHz
DECOUPLE H1, 300.0629670 MHz
Power 38 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 3.6 hours

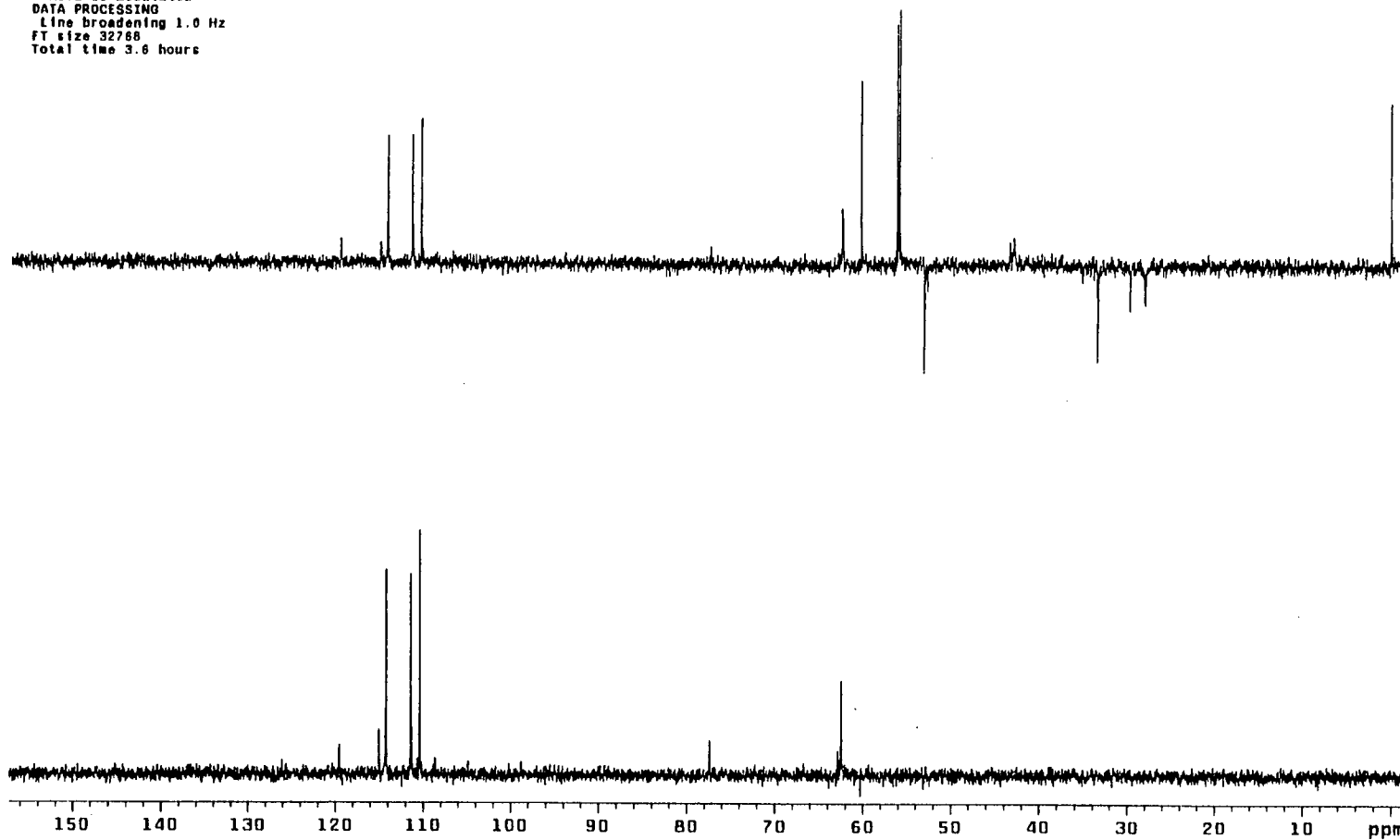


Figura 29- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de IV (CDCl_3 , 75 MHz)

AD-18-Hetcor
 Solvent: CDCl₃
 Ambient temperature
 GEMINI-300BB "station1"
 PULSE SEQUENCE: hetcor
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. time 0.082 sec
 Width 12492.0 Hz
 2D Width 2615.4 Hz
 320 repetitions
 128 increments
 OBSERVE C13, 75.4506311 MHz
 DECOUPLE H1, 300.0830443 MHz
 Power 38 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.041 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.020 sec
 FT size 2048 x 512
 Total time 12.8 hours

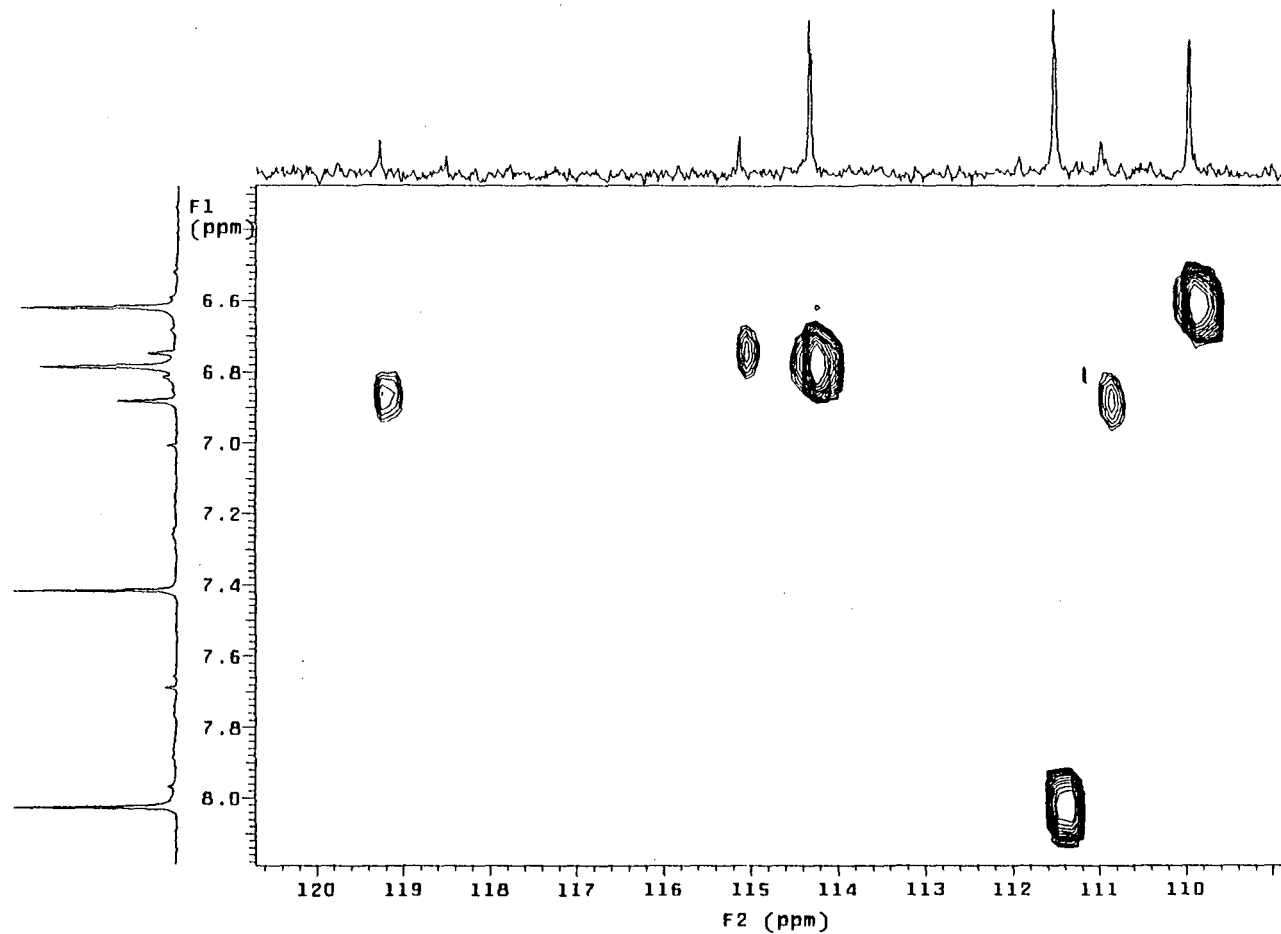


Figura 30- espectro de HETCOR de IV (CDCl₃, 75 MHz)

IV

Mode = 2 (Mid-IR)

28/11/00 17:08

Sample Description: filme sólido (CHCl₃)

Scans = 16

Res = 4 cm⁻¹ 20 scans/min

Apod = Cosine

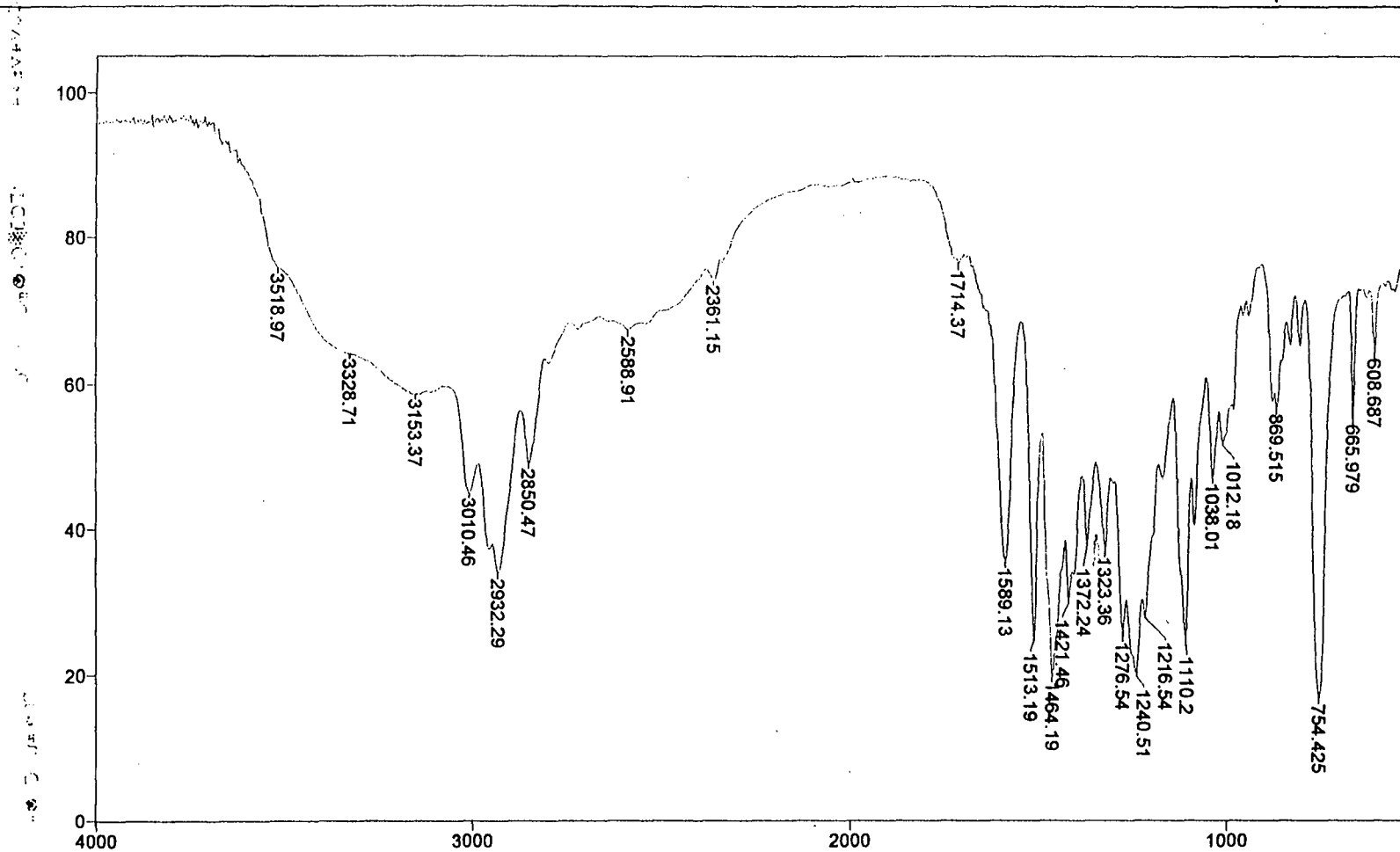
Transmittance / Wavenumber (cm⁻¹)

Figura 31 - espectro no infravermelho de IV

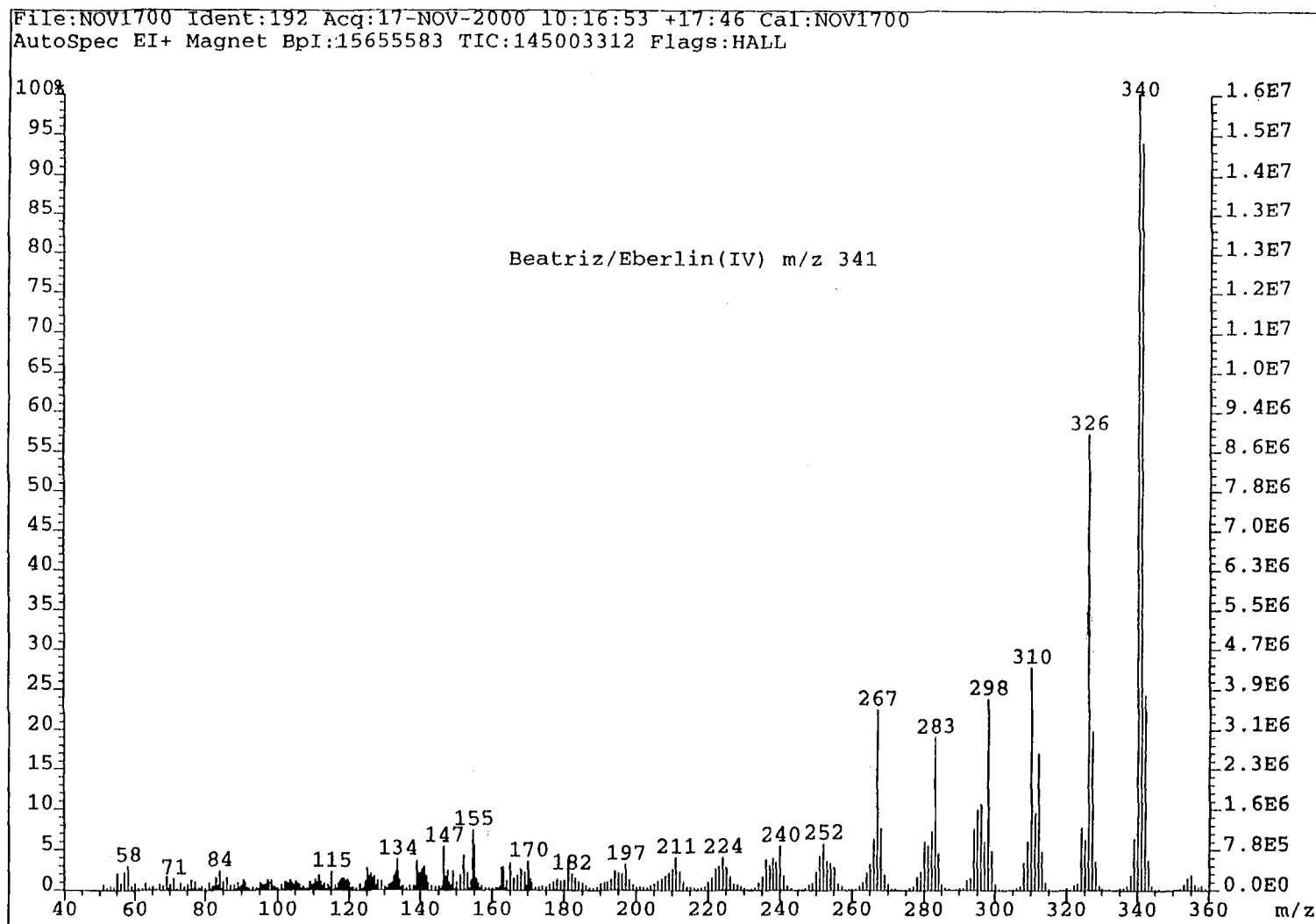


Figura 32- espectro de massas de IV

AD-8-H1
 Solvent: CDCl₃
 Ambient temperature
 File: AD-8-H1
 GEMINI-300BB "station1"
 PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 2.499 sec
 Width 4801.0 Hz
 256 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0618882 MHz
 DATA PROCESSING
 Line broadening 0.3 Hz
 FT size 32768
 Total time 14 minutes

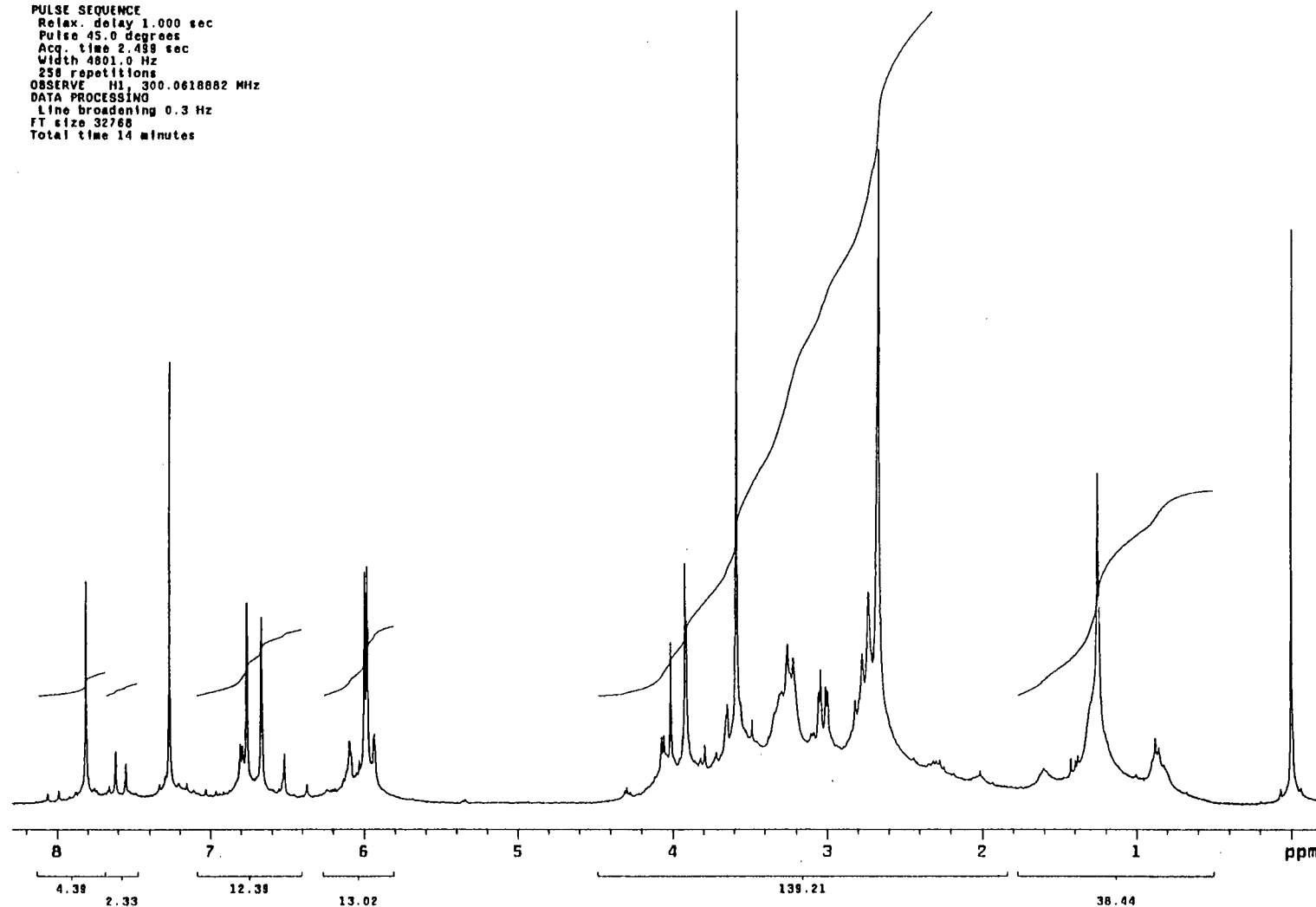


Figura 33- espectro RMN ¹H de V (CDCl₃, 300 MHz)

AD-8-C13
Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
GEMINI-300BB "station1"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 30.0 degrees
Acq. time 0.500 sec
Width 18761.7 Hz
35555 repetitions
OBSERVE C13, 75.4500187 MHz
DECOUPLE H1, 300.0829670 MHz
Power 39 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 17.8 hours

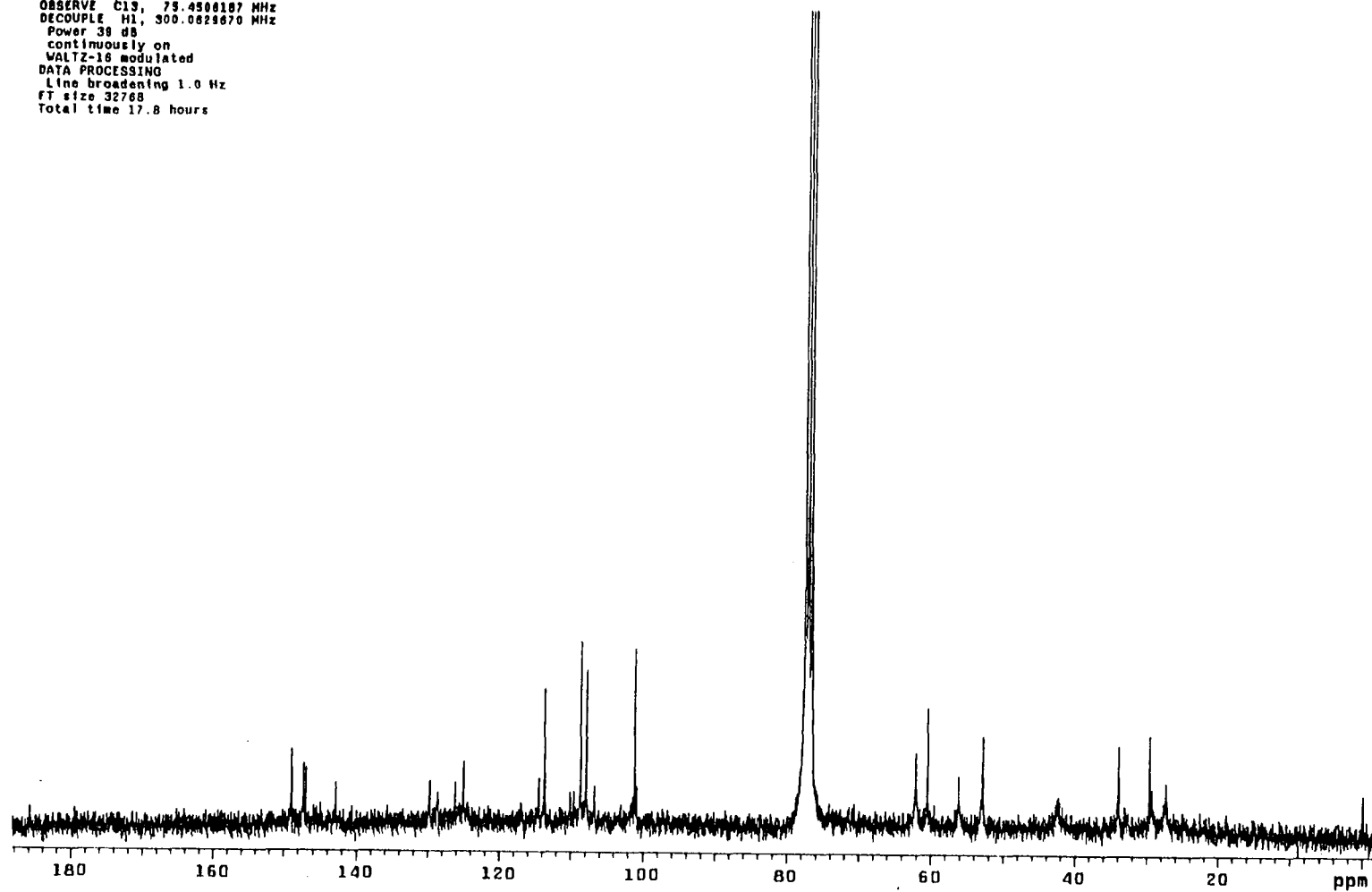


Figura 34- espectro RMN ¹³C PND de V (CDCl₃, 75 MHz)

AD-8-DEPT
Solvent: cdcl3
Ambient temperature
GEMINI-300BB "station1"
PULSE SEQUENCE: dept
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 0.600 sec
Width 18761.7 Hz
4144 repetitions
OBSERVE C13, 75.4506187 MHz
DECOUPLE H1, 300.0829870 MHz
Power 39 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 5.5 hours

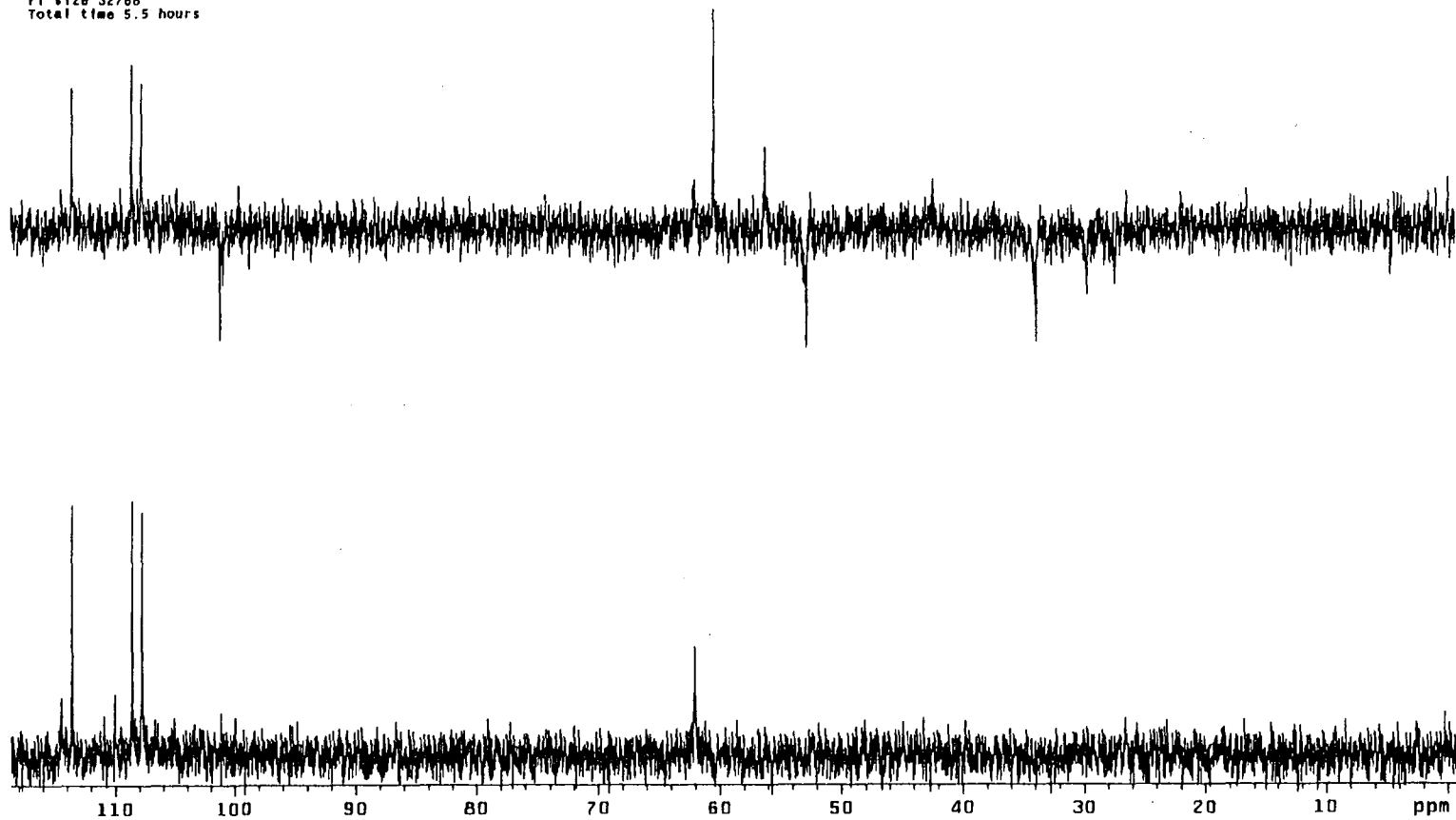


Figura 35- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de V (CDCl_3 , 75 MHz)

AD-8-HETCOR

Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
GEMINI-300BB "station1"

PULSE SEQUENCE: hetcor
Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.055 sec
Width 18761.7 Hz
2D Width 4801.0 Hz
512 repetitions
128 increments

OBSERVE C13, 75.4506187 MHz
DECOUPLE H1, 300.0636831 MHz
Power 39 dB

on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING
Sine bell 0.028 sec

F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.020 sec

FT size 2048 x 1024
Total time 19.4 hours

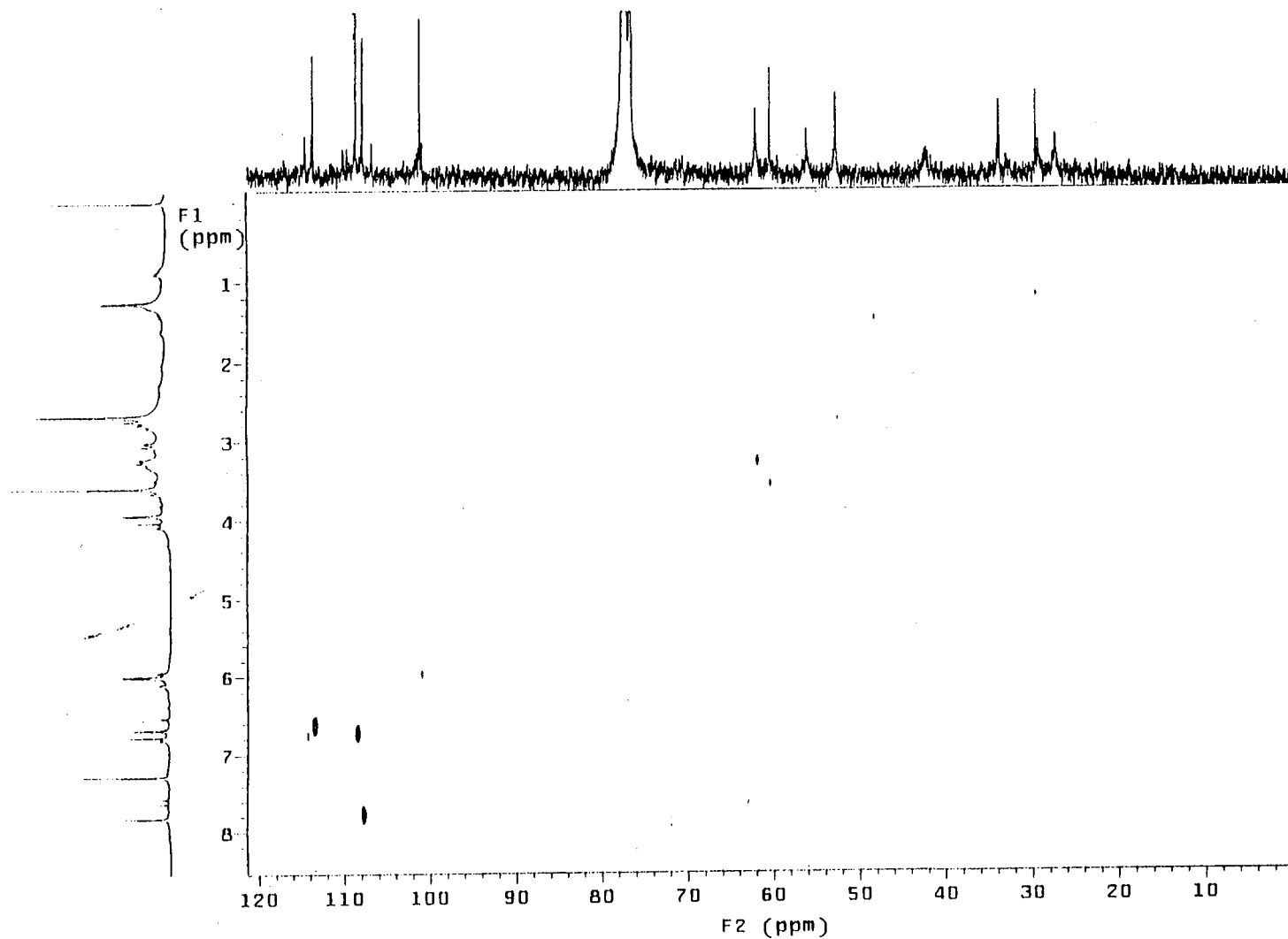


Figura 36- espectro de HETCOR de V (CDCl₃/CD₃OD)

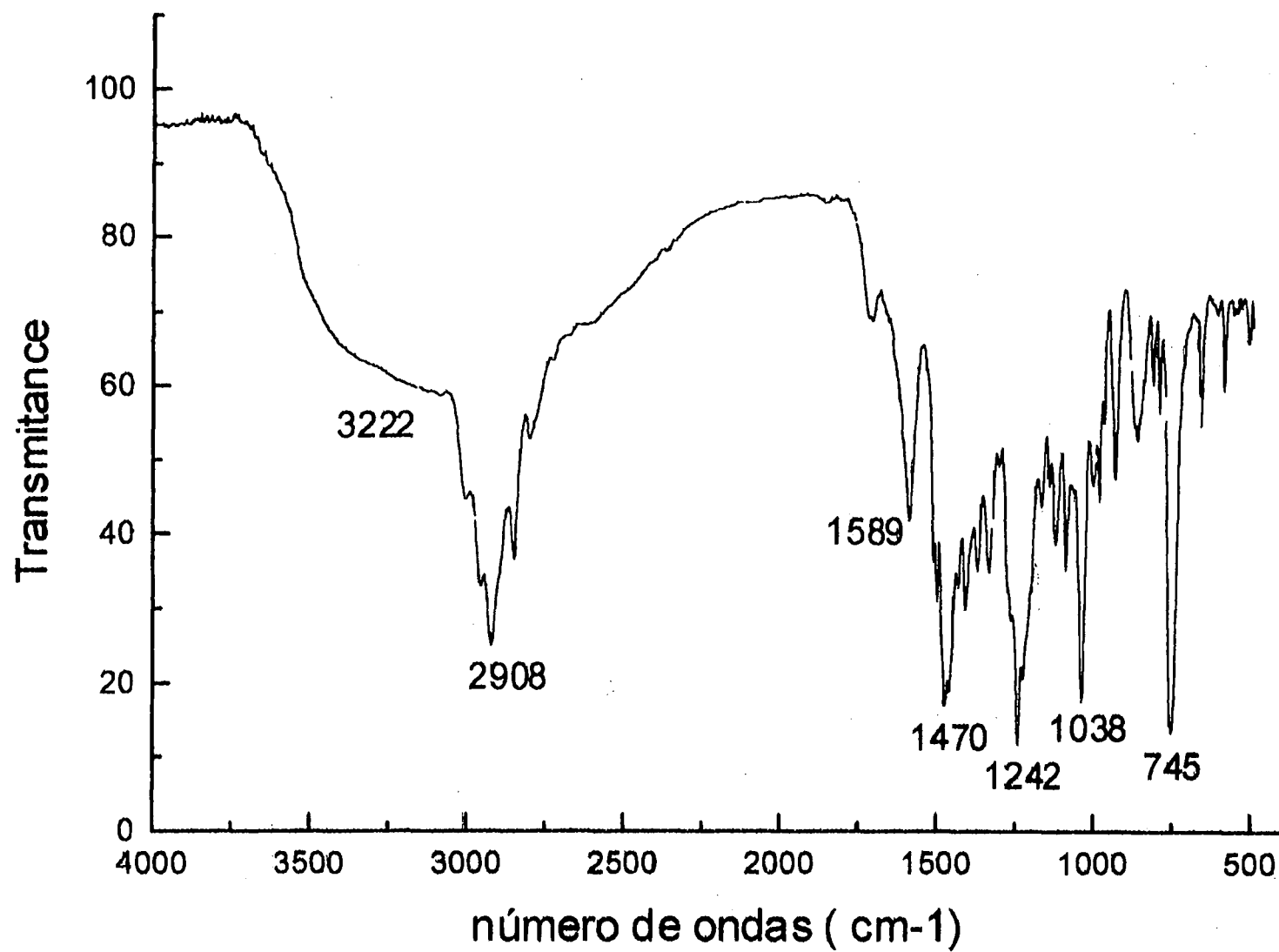


Figura 37- espectro no infravermelho de V

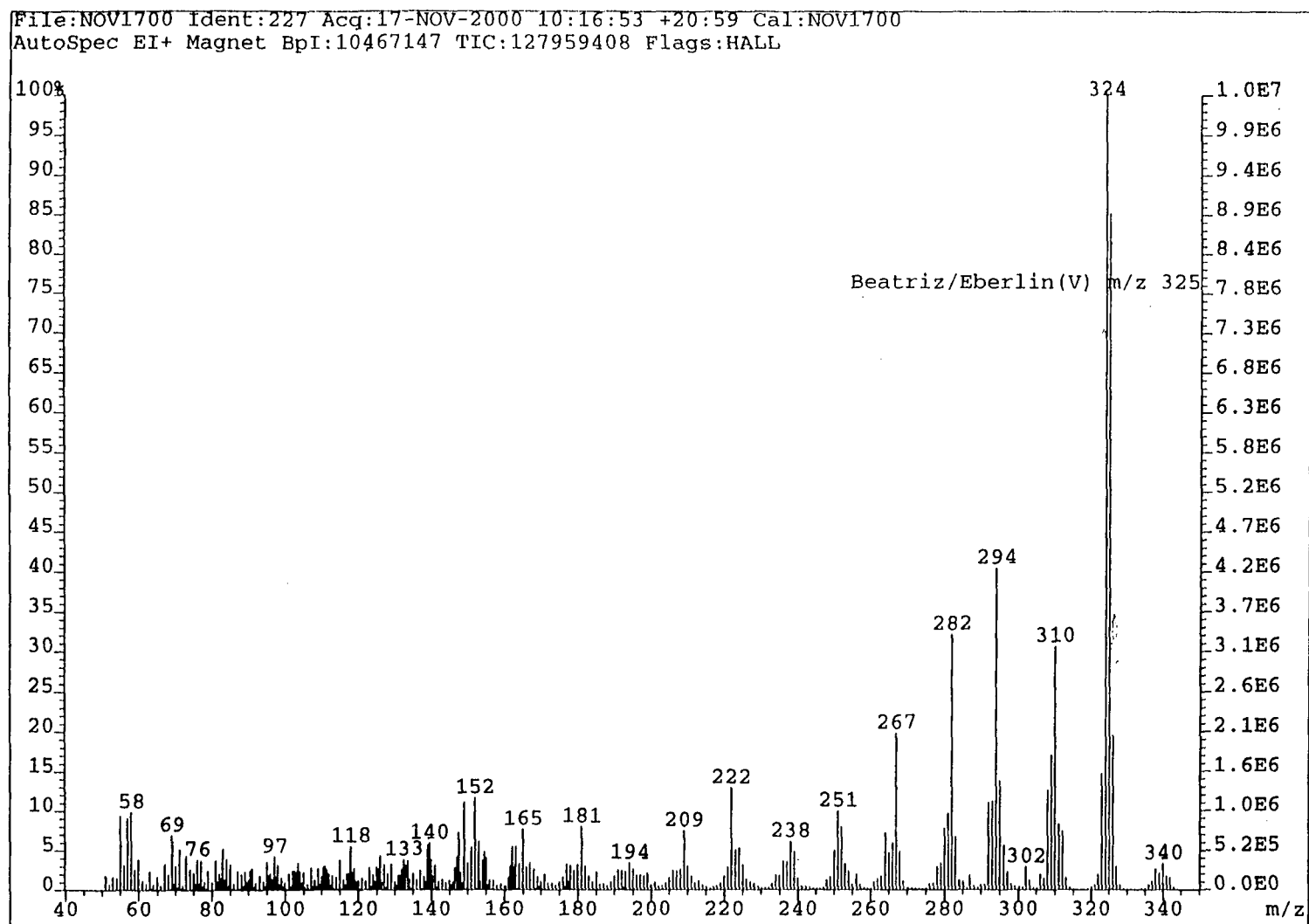


Figura 38- espectro de massas de V.

AD-12-H1
 Solvent: CDCl₃
 Ambient temperature
 MINI-30088 "station1"
 PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 2.500 sec
 Width 3929.2 Hz
 64 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0818878 MHz
 DATA PROCESSING
 Line broadening 0.3 Hz
 FT size 32768
 Total time 3 minutes

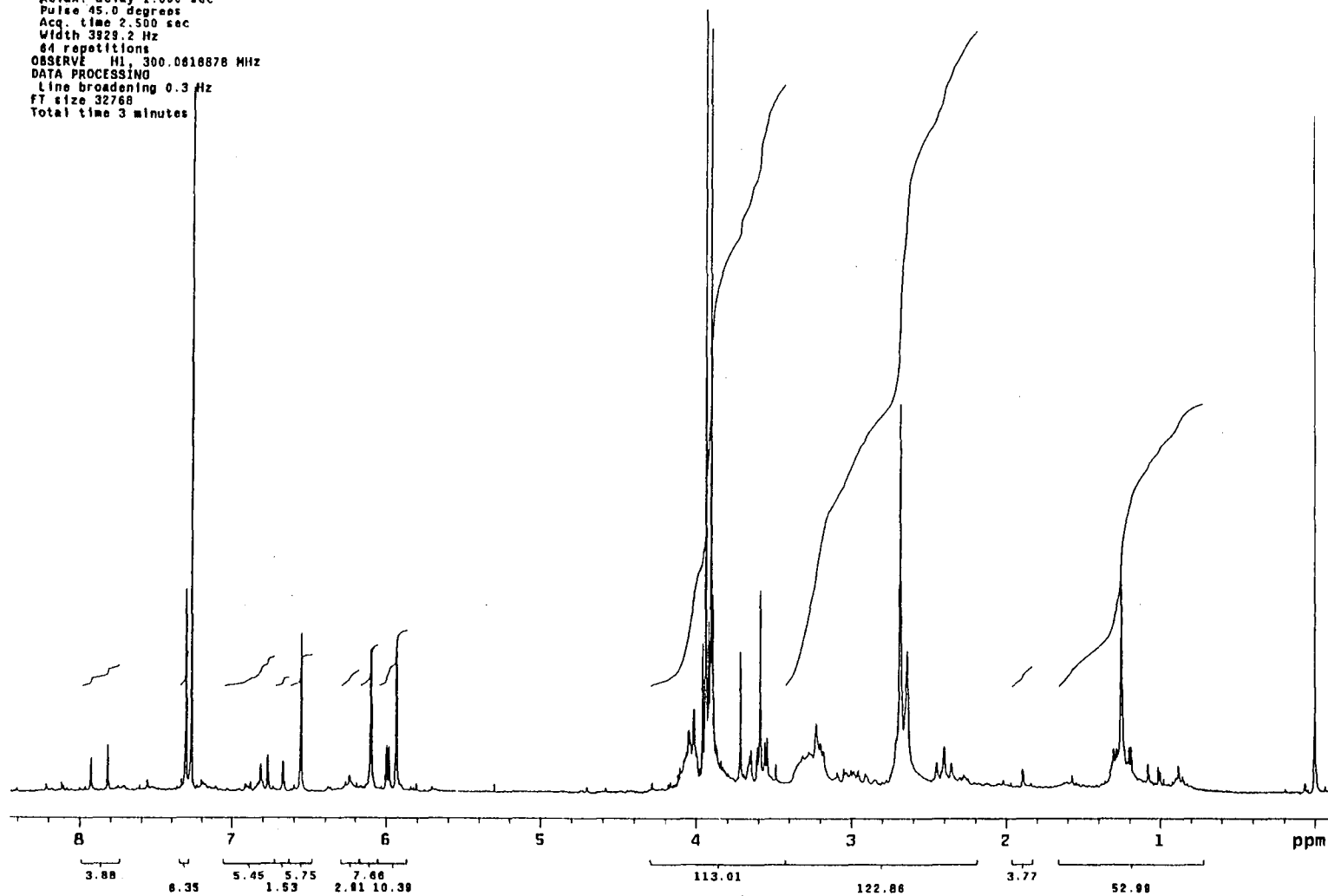


Figura 39- espectro RMN ¹H de VI (CDCl₃, 300 MHz)

AD-12-C13
Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
GEMINI-300BB "station1"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 30.0 degrees
Acq. time 0.800 sec
Width 18761.7 Hz
28000 repetitions
OBSERVE C13, 75.4508187 MHz
DECOUPLE H1, 300.0629670 MHz
Power 39 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 12.4 hours

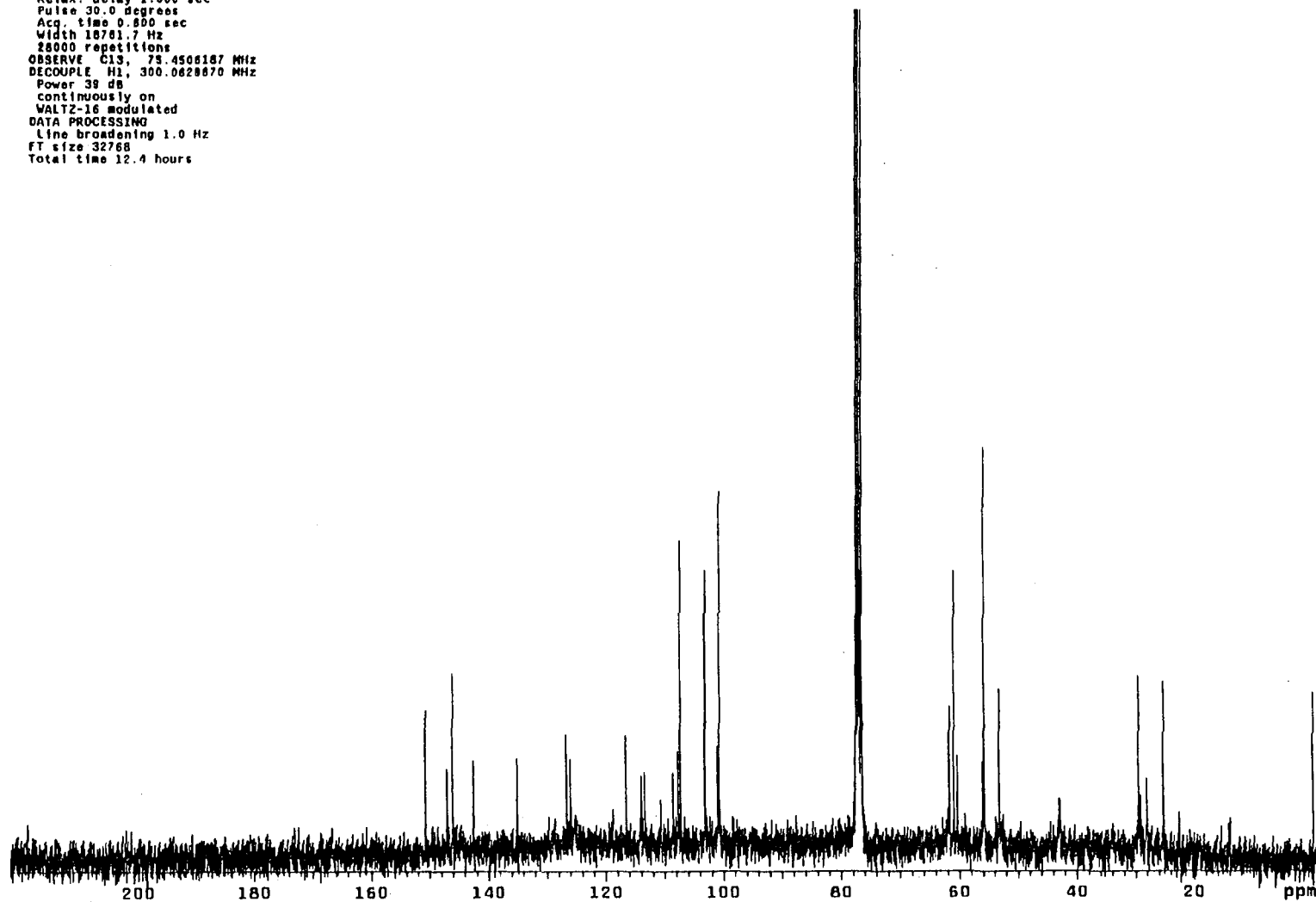


Figura 40- espectro RMN ¹³C PND de VI (CDCl₃, 75 MHz)

AD-12-dept
 Solvent: cdc13
 Ambient temperature
 GENINI-30088 "station1"
 PULSE SEQUENCE: dept
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 90.0 degrees
 Acq. time 0.600 sec
 Width 18781.7 Hz
 5120 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4506176 MHz
 DECOUPLE H1, 300.0628670 MHz
 Power 38 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 32768
 Total time 4.6 hours

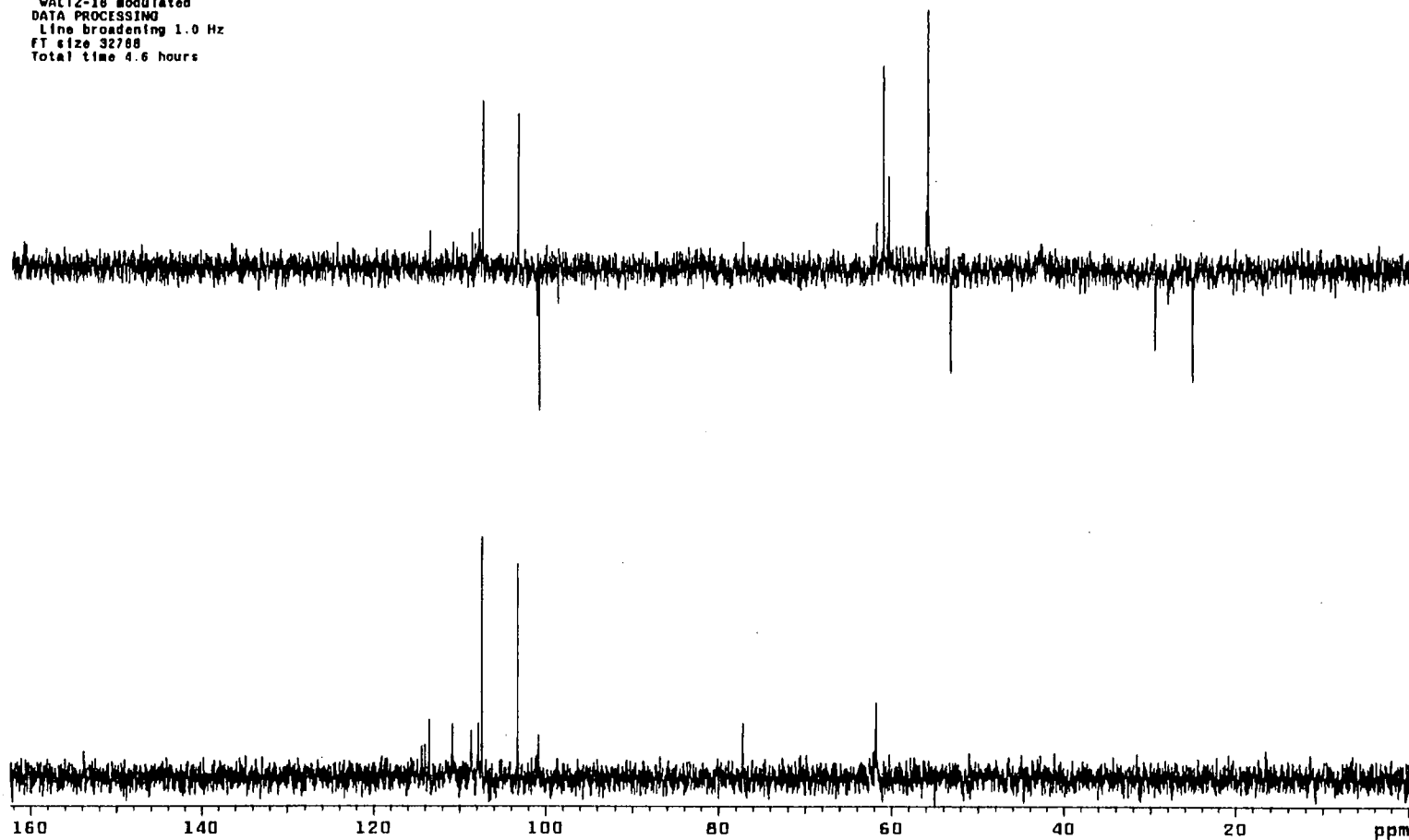


Figura 41- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de VI (CDCl₃, 75 MHz)

AD-12-Hetcor
 Solvent: CDCl₃
 Ambient temperature
 GEMINI-300BB "station1"
 PULSE SEQUENCE: hetcor
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. time 0.084 sec
 Width 12208.1 Hz
 2D Width 2633.6 Hz
 320 repetitions
 128 increments
 OBSERVE C13, 75.4508221 MHz
 DECOUPLE H1, 300.0630888 MHz
 Power 39 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.042 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.020 sec
 FT size 2048 x 1024
 Total time 12.6 hours

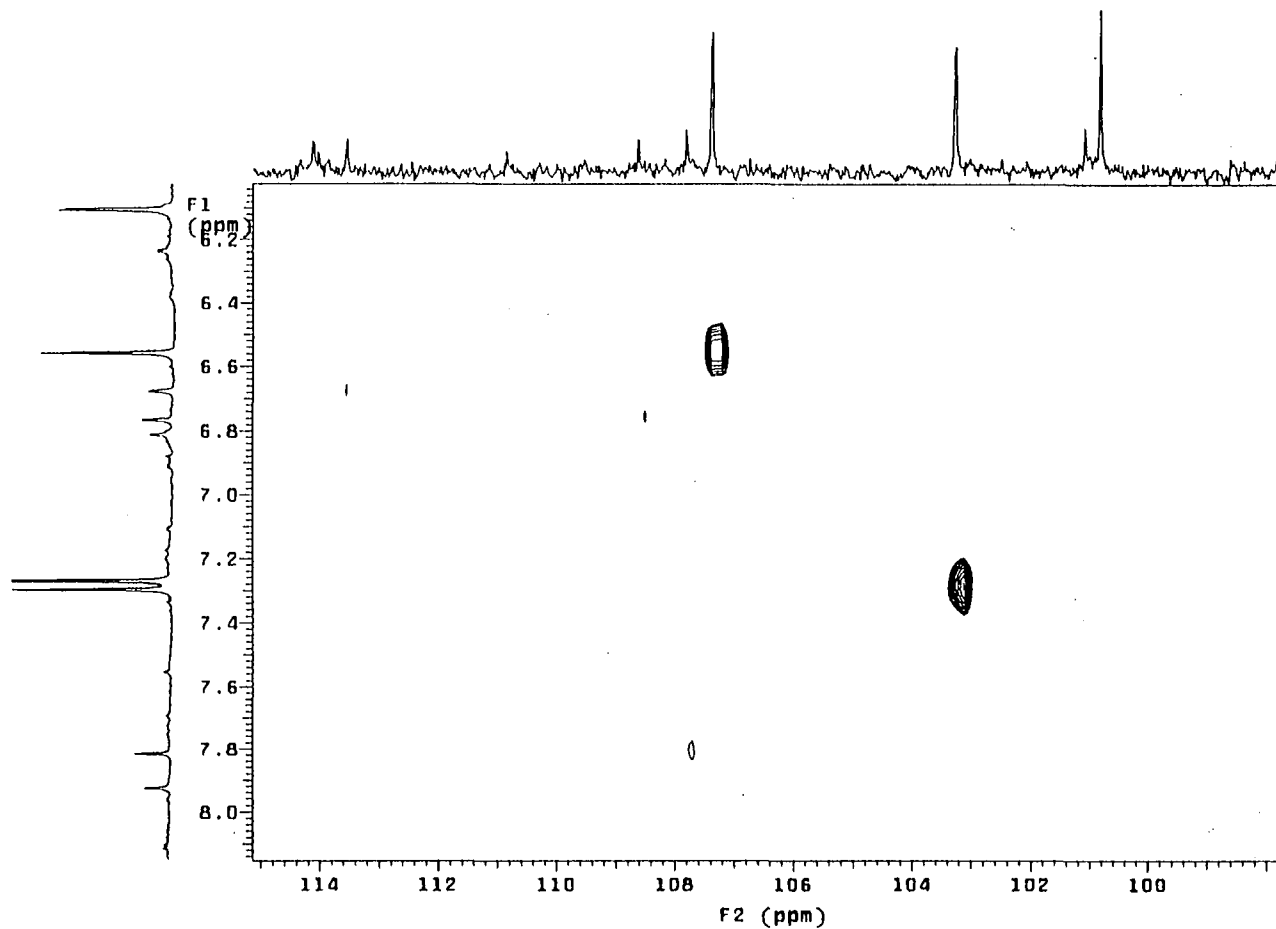


Figura 42- espectro de HETCOR de VI (CDCl₃)

AD-12b

Mode = 2 (Mid-IR)

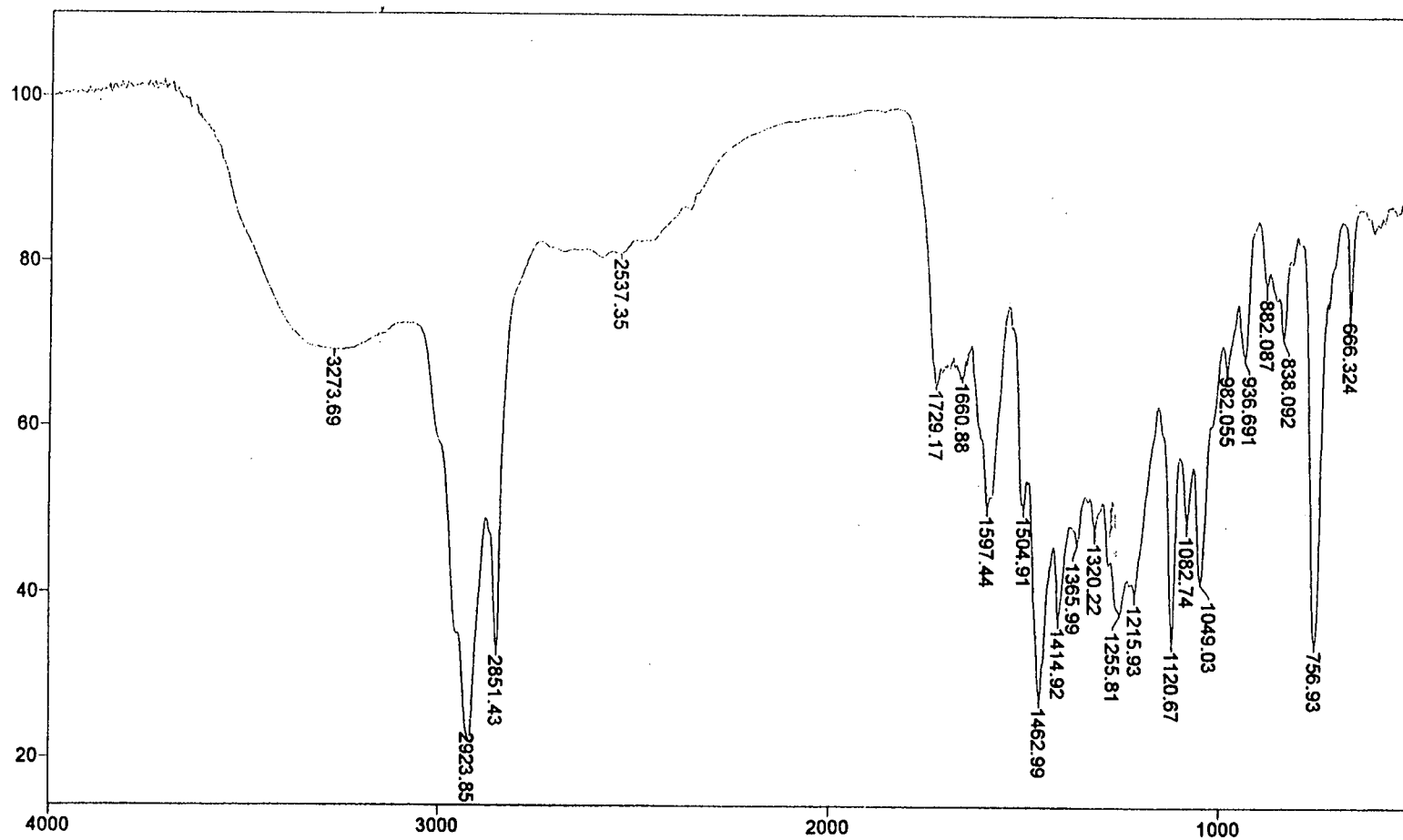
28/11/00 16:54

Sample Description: filme sólido (CHCl₃)

Scans = 16

Res = 4 cm⁻¹ 20 scans/min

Apod = Cosine



Transmittance / Wavenumber (cm⁻¹)

Figura 43- espectro no infravermelho de VI

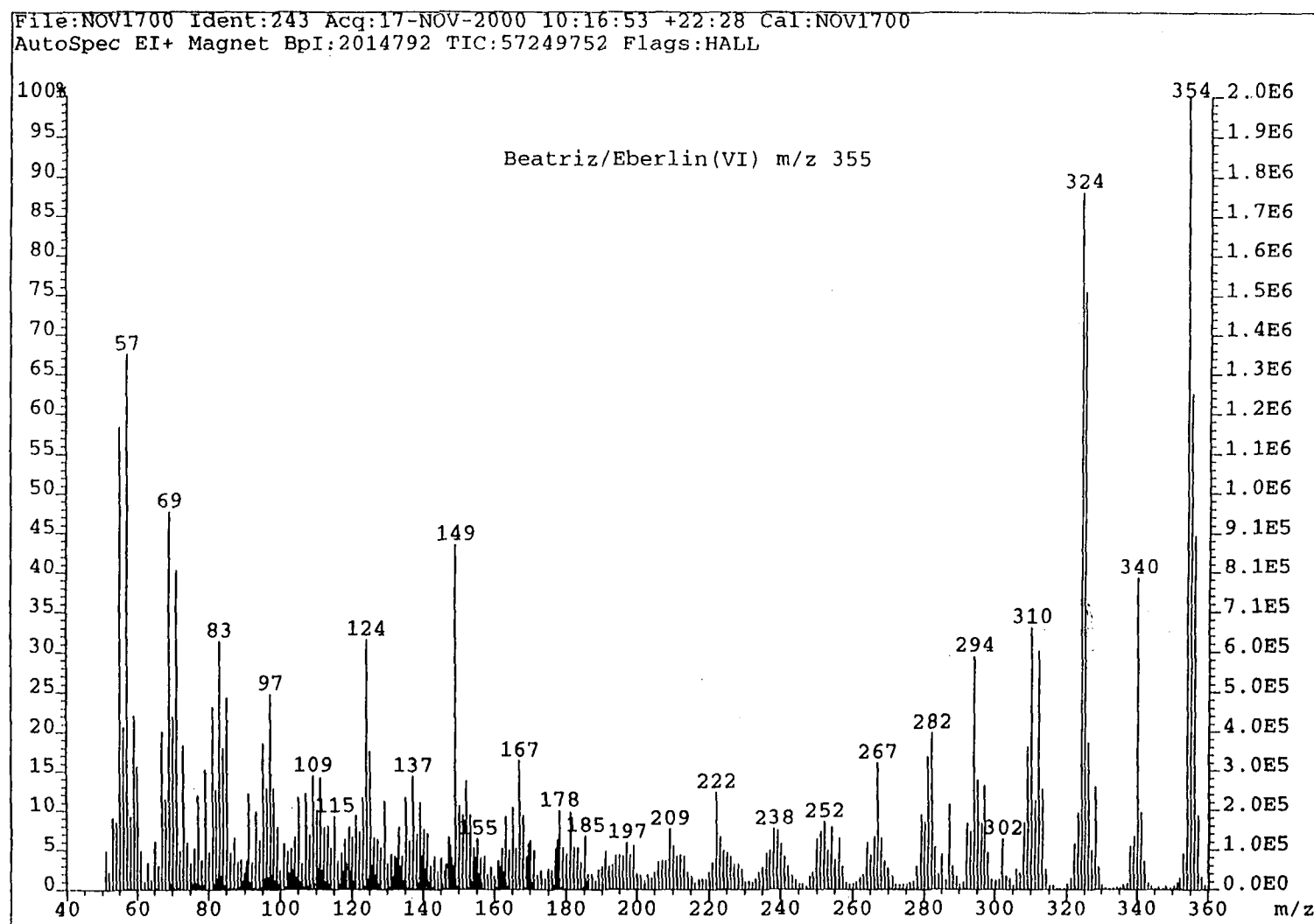


Figura 44 - espectro de massas de VI.

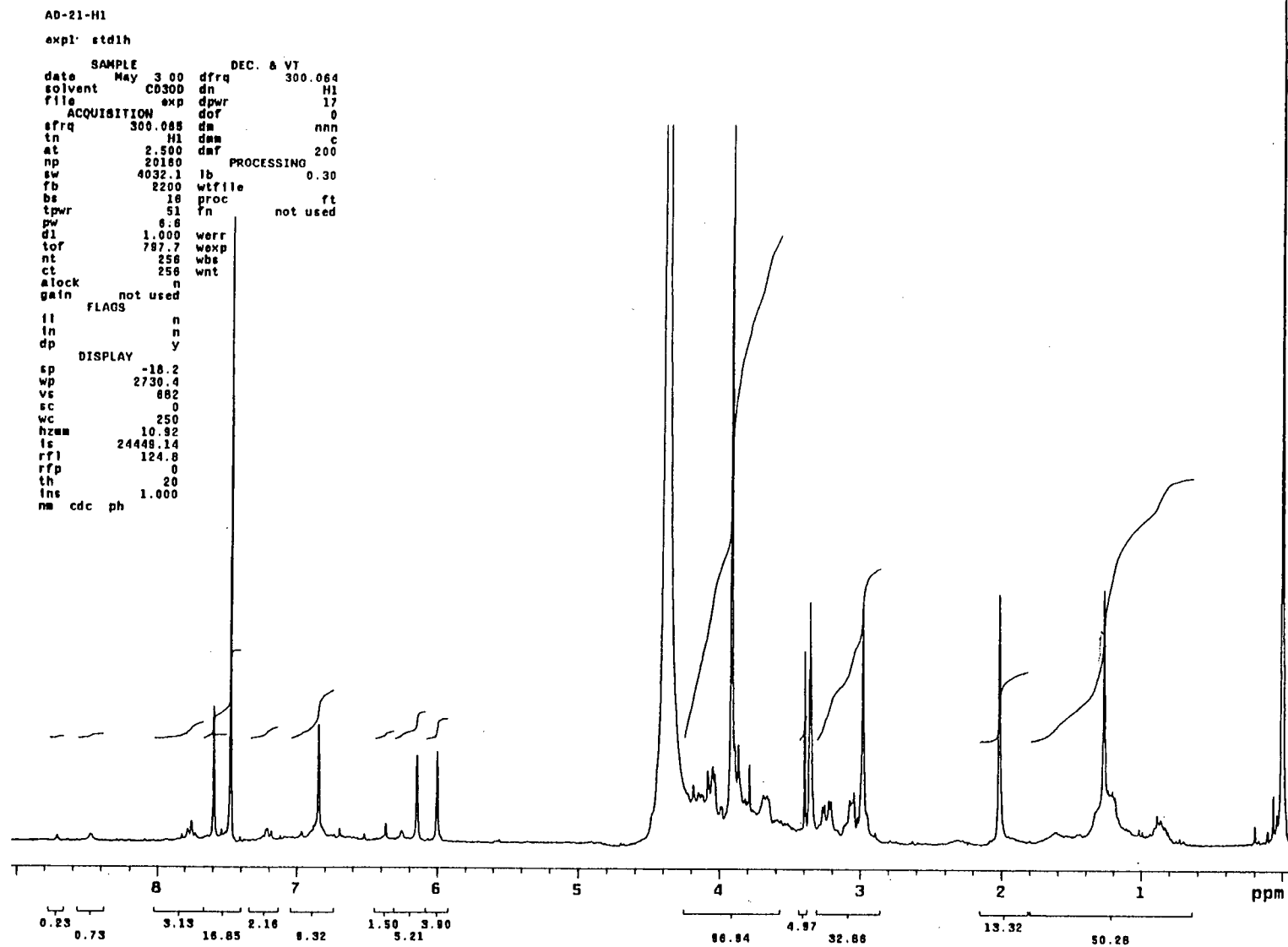


Figura 45- espectro RMN ^1H de VII ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, 300 MHz)

AD-21-C13
Solvent: CD3OD
Ambient temperature
DEMIMI-30088 "station1"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 30.0 degrees
Acq. time 0.600 sec
Width 18761.7 Hz
84000 repetitions
OBSERVE C13, 75.4508824 MHz
DECOUPLE H1, 300.0641493 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 32768
Total time 37.3 hours

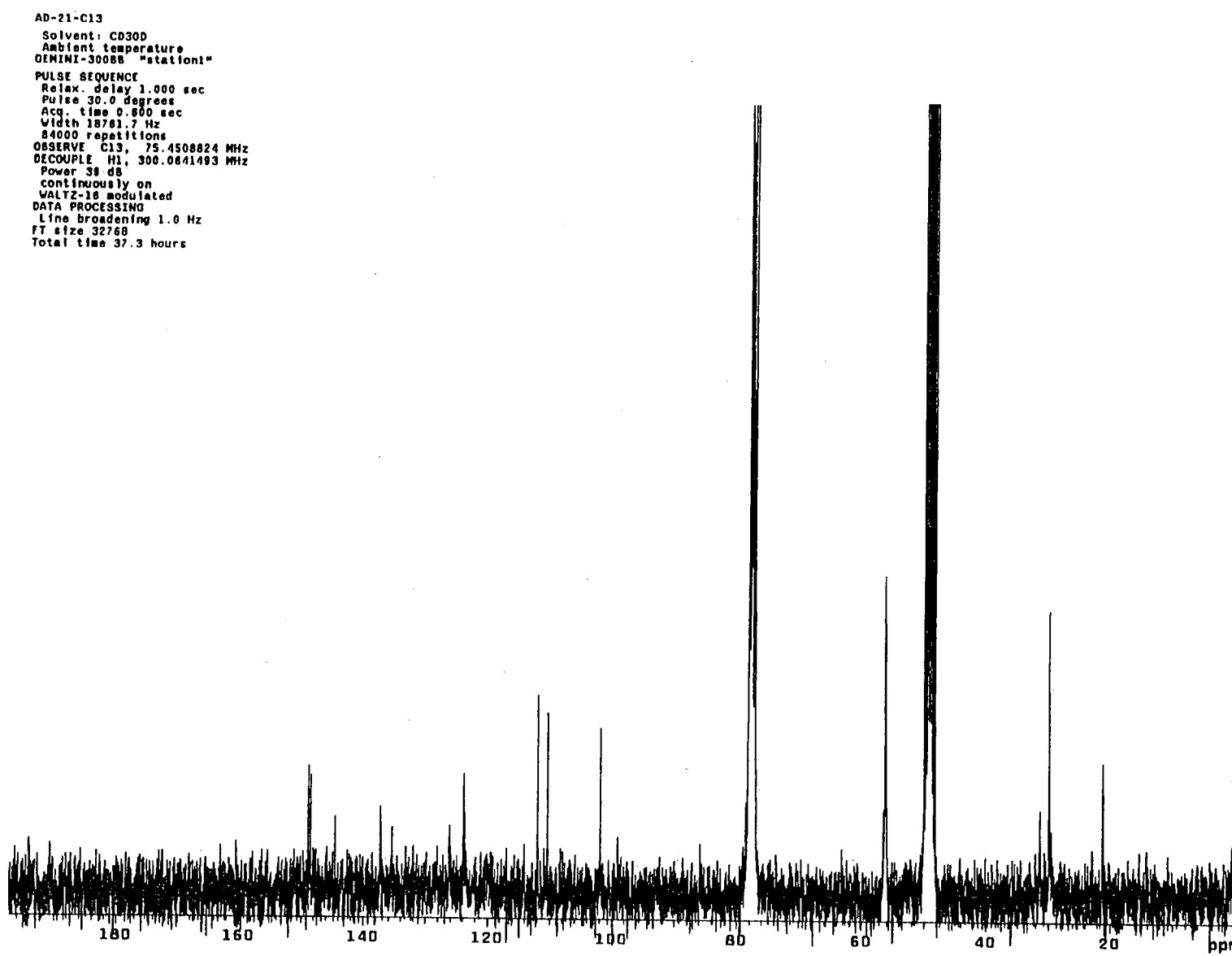


Figura 46- espectro RMN ^{13}C PND de VII ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, 75 MHz)

AD-21-DEPT
 Solvent: CD3OD
 Ambient temperature
 GEMINI-300SB "station1"
 PULSE SEQUENCE: dept
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 90.0 degrees
 Acq. time 0.800 sec
 Width 18761.7 Hz
 6144 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4509367 MHz
 DECOUPLE H1, 300.0641493 MHz
 Power 35 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 32768
 Total time 5.5 hours

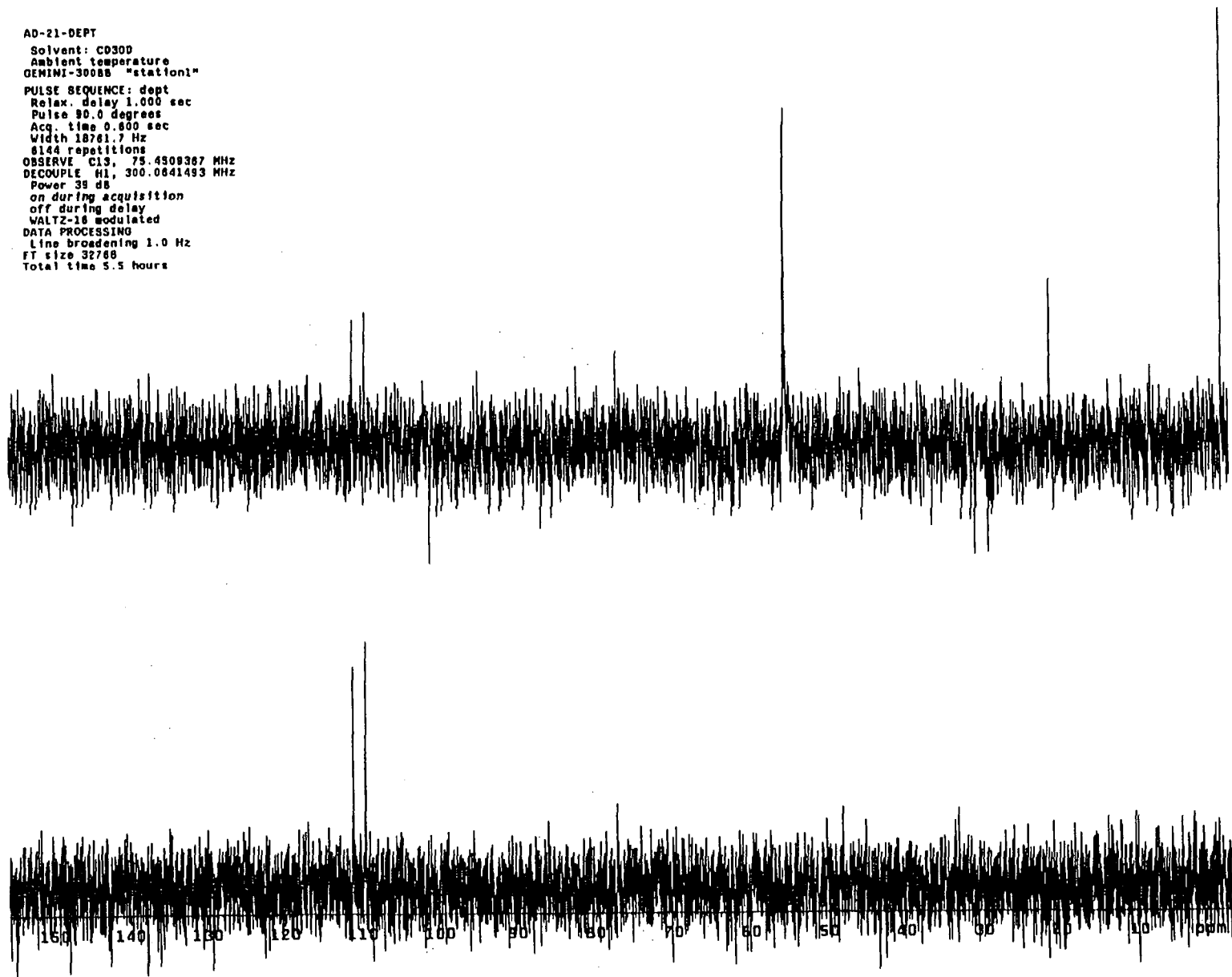


Figura 47- espectro RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de VII ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, 75 MHz)

File:NOV1600 Ident:414 Acq:16-NOV-2000 12:22:43 +52:04 Cal:NOV1600
AutoSpec EI+ Magnet BpI:12211 TIC:121161 Flags:HALL

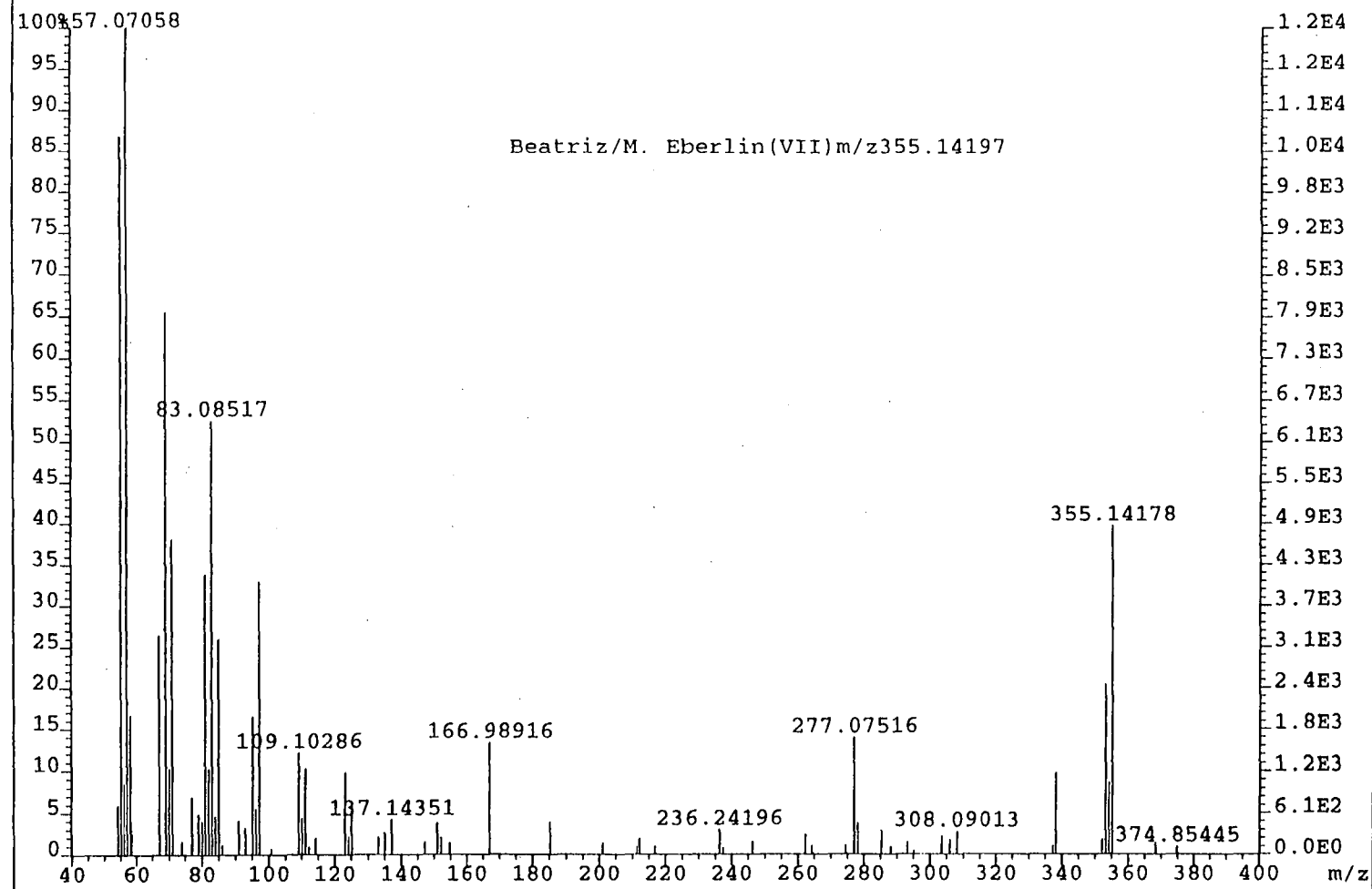


Figura 48- espectro de massas de VII.

AD-10 Adelson (Dulce)
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: CDCl3
Temp: 90.0 C / 303.1 K
INNOVA-500 "multis5"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 0.896 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 4.004 sec
Width 5209.3 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 499.7721841 MHz
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 0 min, 40 sec

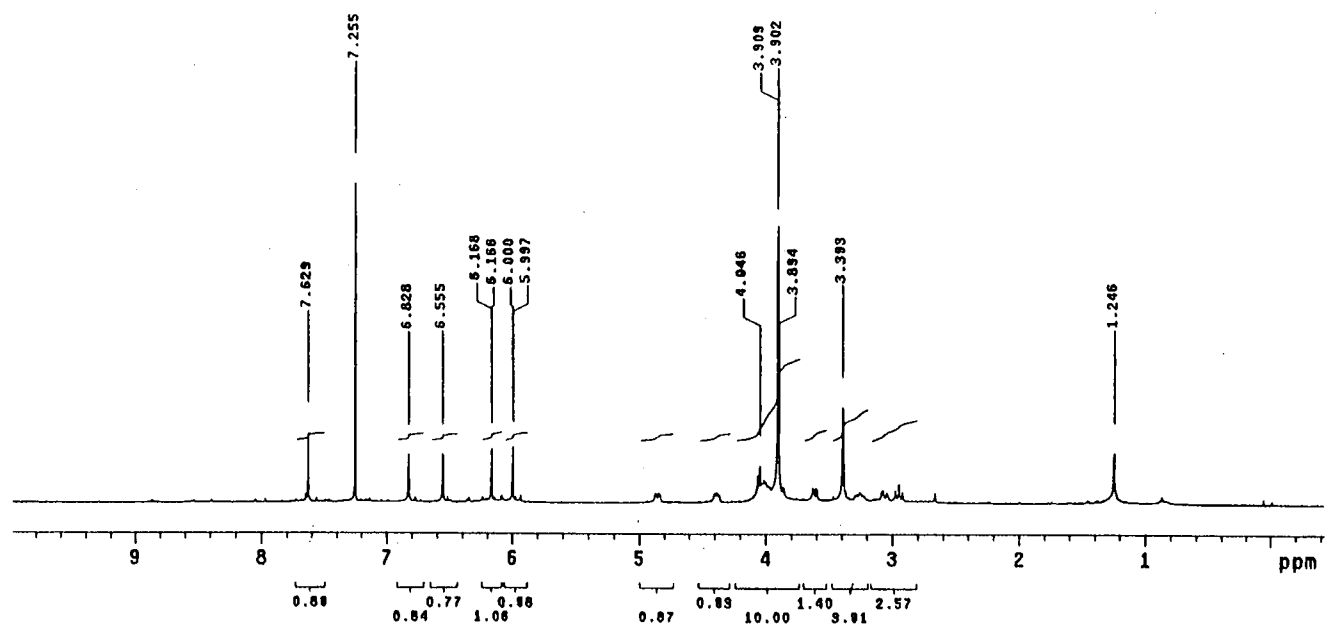


Figura 49- espectro RMN ¹H de VIII (CDCl₃, 500 MHz)

AD 10 Adelson
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "mult165"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.045 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 0.155 sec
Width 91421.6 Hz
5504 repetitions
OBSERVE C13, 125.8677856 MHz
DECOUPLE H1, 489.7749277 MHz
Power 50 dB
continuously on
OAP-1 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 4 hr, 59 min, 54 sec

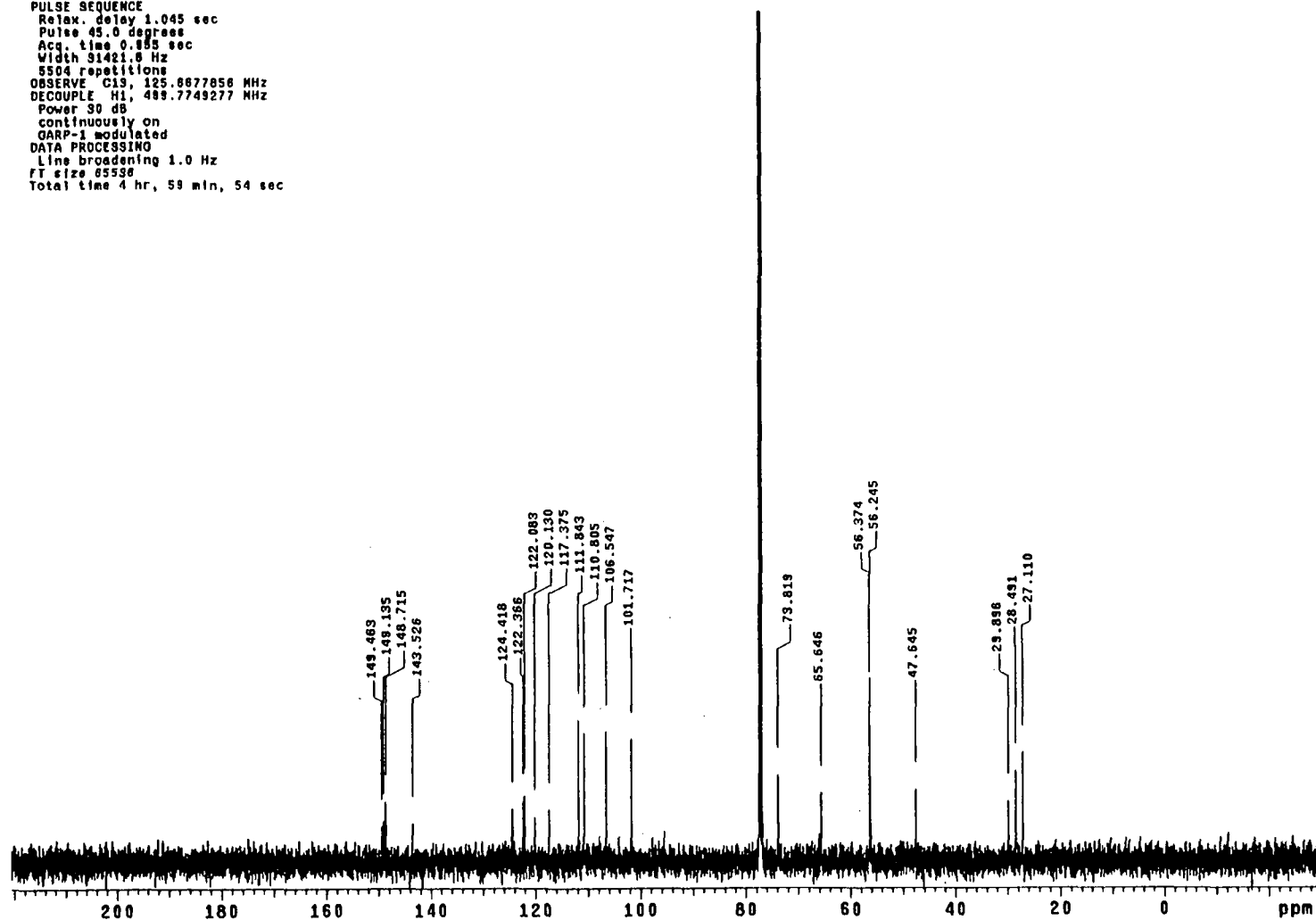


Figura 50- espectro RMN ^{13}C PND de VIII (CDCl_3 , 125 MHz)

AD-10-DEPT
 Solvent: cdc13
 Ambient temperature
 GEMINI-30085 "station1"
 PULSE SEQUENCE: dept
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 90.0 degrees
 Acq. time 0.800 sec
 Width 18761.7 Hz
 4096 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4506198 MHz
 DECOUPLE H1, 300.0629670 MHz
 Power 39 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 32768
 Total time 3.6 hours

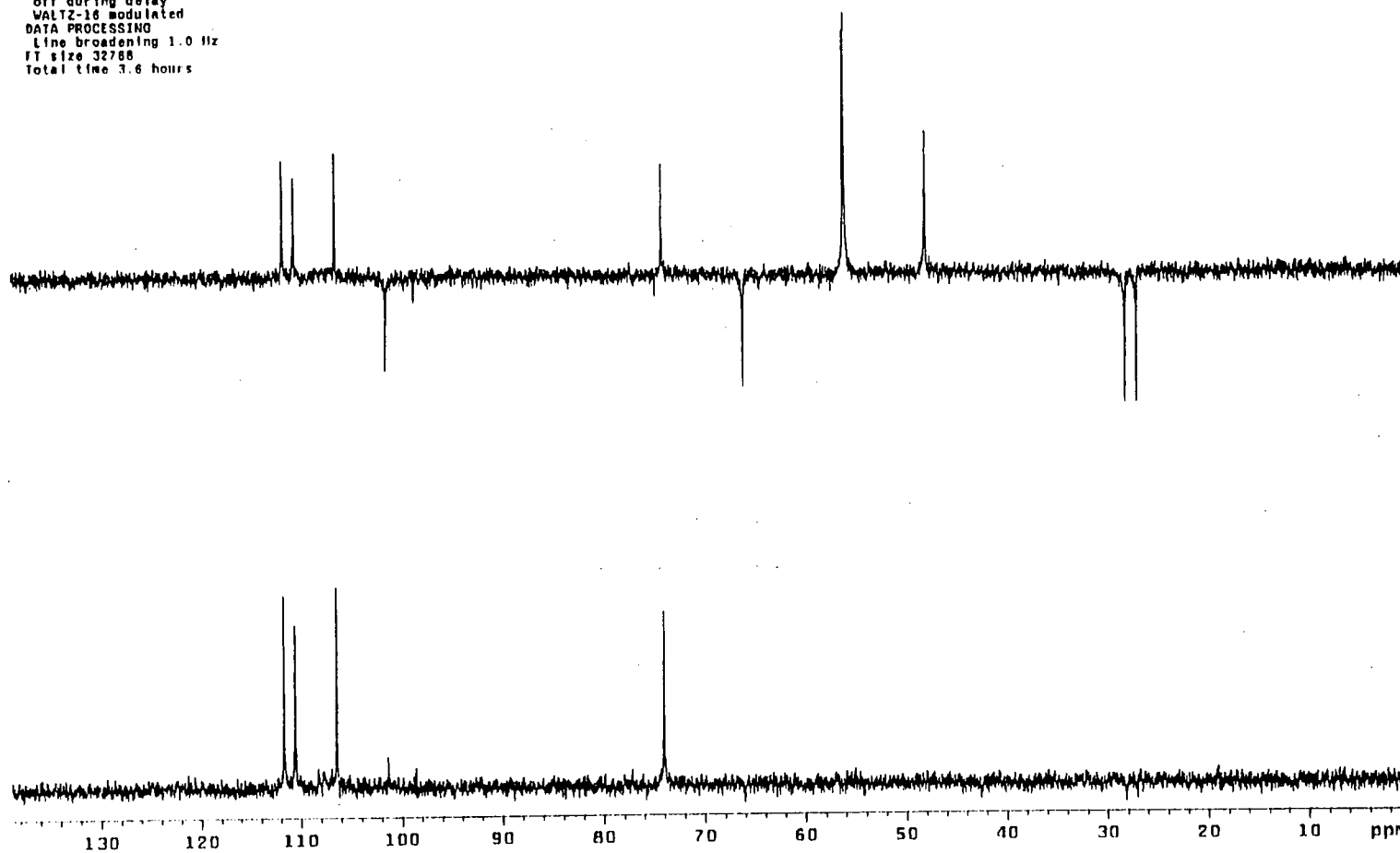


Figura 51- espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 e 90° de VIII (CDCl₃, 75 MHz)

AD-10-HETCOR
 Solvent: CDCl₃
 Ambient temperature
 File: AD-10-HETCOR
 QZMINI-30088 "station1"
 PULSE SEQUENCE: hetcor
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. time 0.055 sec
 Width 18781.7 Hz
 2D Width 4801.0 Hz
 768 repetitions
 128 increments
 OBSERVE C13, 75.4508188 MHz
 DECOUPLE H1, 300.0638831 MHz
 Power 35 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.028 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.020 sec
 FT size 2048 x 1024
 Total time 29.2 hours

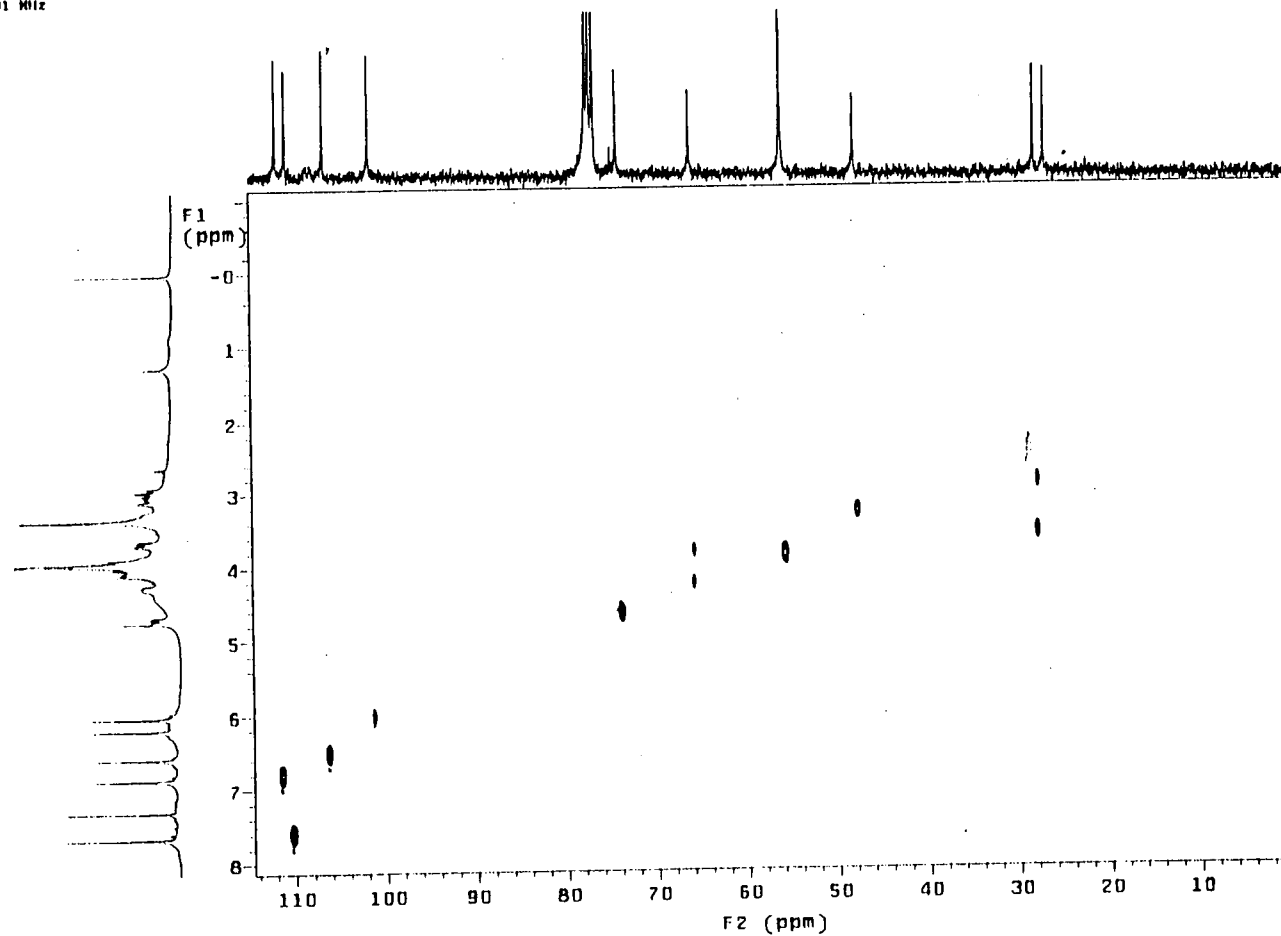


Figura 52- espectro de HETCOR de VIII (CDCl₃)

File:NOV1600 Ident:350 Acq:16-NOV-2000 12:22:43 +44:03 Cal:NOV1600
AutoSpec EI+ Magnet BpI:8430 TIC:63611 Flags:HALL

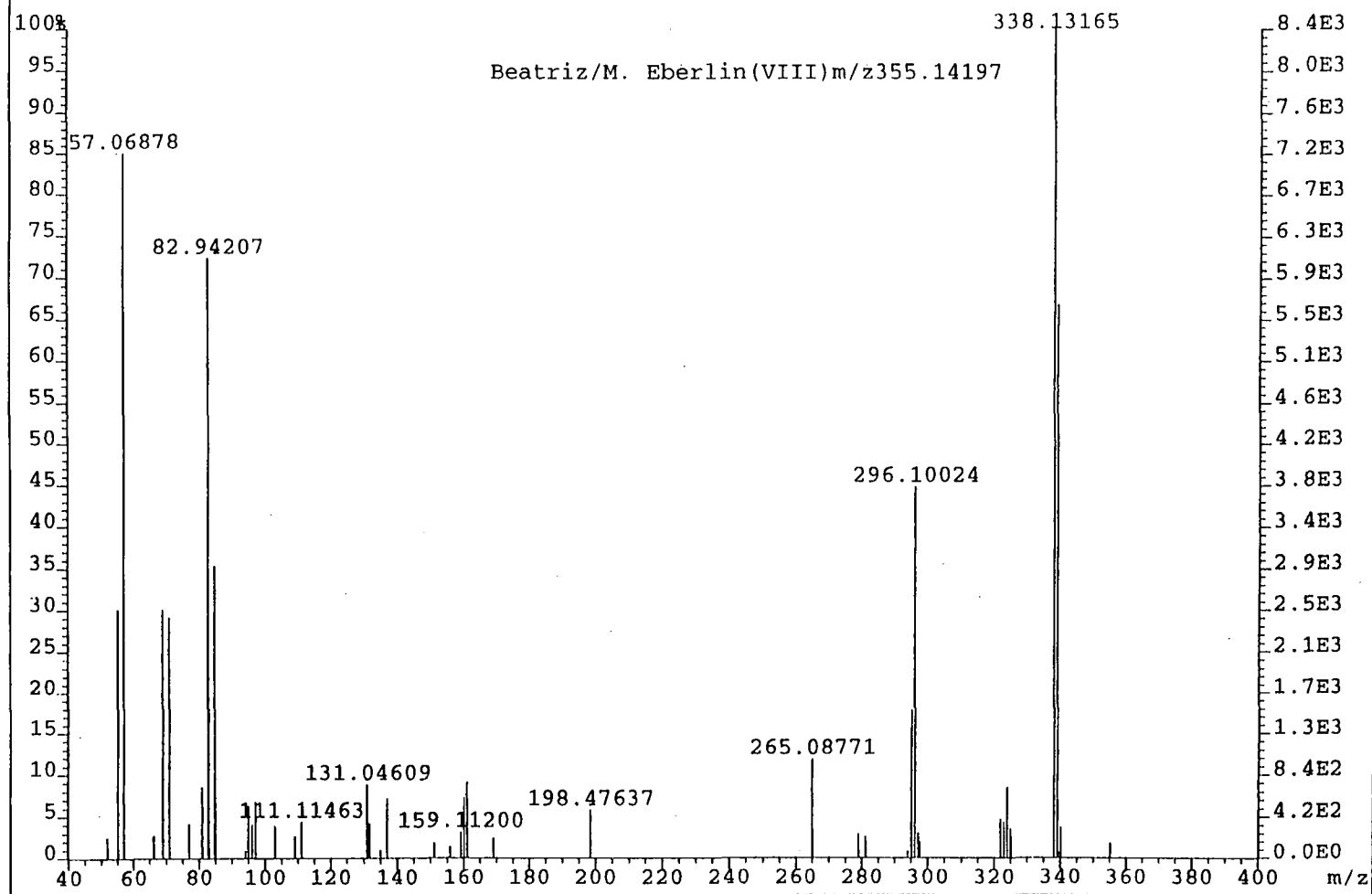


Figura 53- espectro de massas de VIII